KATA PENGANTAR

Kurikulum 2013 dirancang untuk memperkuat kompetensi siswa dari sisi sikap, pengetahuan dan keterampilan secara utuh. Keutuhan tersebut menjadi dasar dalam perumusan kompetensi dasar tiap mata pelajaran mencakup kompetensi dasar kelompok sikap, kompetensi dasar kelompok pengetahuan, dan kompetensi dasar kelompok keterampilan. Semua mata pelajaran dirancang mengikuti rumusan tersebut.

Pembelajaran kelas X dan XI jenjang Pendidikan Menengah Kejuruhan yang disajikan dalam buku ini juga tunduk pada ketentuan tersebut. Buku siswa ini diberisi materi pembelajaran yang membekali peserta didik dengan pengetahuan, keterampilan dalam menyajikan pengetahuan yang dikuasai secara kongkrit dan abstrak, dan sikap sebagai makhluk yang mensyukuri anugerah alam semesta yang dikaruniakan kepadanya melalui pemanfaatan yang bertanggung jawab.

Buku ini menjabarkan usaha minimal yang harus dilakukan siswa untuk mencapai kompetensi yang diharuskan. Sesuai dengan pendekatan yang digunakan dalam kurikulum 2013, siswa diberanikan untuk mencari dari sumber belajar lain yang tersedia dan terbentang luas di sekitarnya. Peran guru sangat penting untuk meningkatkan dan menyesuaikan daya serp siswa dengan ketersediaan kegiatan buku ini. Guru dapat memperkayanya dengan kreasi dalam bentuk kegiatan-kegiatan lain yang sesuai dan relevan yang bersumber dari lingkungan sosial dan alam.

Buku ini sangat terbuka dan terus dilakukan perbaikan dan penyempurnaan. Untuk itu, kami mengundang para pembaca memberikan kritik, saran, dan masukan untuk perbaikan dan penyempurnaan. Atas kontribusi tersebut, kami ucapkan terima kasih. Mudah-mudahan kita dapat memberikan yang terbaik bagi kemajuan dunia pendidikan dalam rangka mempersiapkan generasi seratus tahun Indonesia Merdeka (2045).

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR TABEL

PETA KEDUDUKAN BAHAN AJAR

PBHPP = Penanganan Bahan Hasil Pertanian dan Perikanan

DPPHPP = Dasar Proses Pengolahan Hasil Pertanian dan Perikanan

DPMHPP = Dasar Pengendalian Mutu Hasil Pertanian dan Perikanan

DAF = Dasar Analisis Fisikokimia

TPC = Teknik Pengambilan Contoh

PMP = Pengujian Mutu Pangan

PMNPL = Pengujian Mutu Non Pangan dan Limbah Industri

MPMHPP = Manajemen Pengendalian Mutu Hasil Pertanian dan Perikanan

GLOSARIUM

Absorben : cairan yang dapat melarutkan bahan yang akan diabsorpsi pada permukaannya, baik secara fisik ataupun dengan reaksi kimia

Afinitas : kecenderungan suatu unsur atau senyawa untuk membentuk ikatan kimia dengan unsur atau senyawa lain.

Cahaya monokromatik adalah cahaya yang hanya terdiri atas satu warna dan satu panjang gelombang. Contoh cahaya monokromatik adalah cahaya merah dan ungu

Cahaya polikromatik : cahaya yang terdiri atas banyak warna dan panjang gelombang. Contoh cahaya polikromatik adalah cahaya putih.

Daya putaran optis : kemampuan suatu zat untuk memutar bidang getar sinar terpolarisir

Elektroda : konduktor yang digunakan untuk bersentuhan dengan bagian atau media non-logam dari sebuah sirkuit (missal semikonduktor, elektrolit atau vakum)

Elusi : proses pemisahan campuran menjadi penyusun-penyusunnya, hasil pemisahan disebut eluat, dan fase gerak disebut eluen.

Fluoresensi : terpancarnya sinar oleh suatu zat yang telah menyerap sinar atau radiasi electromagnet lain

Fosforesensi : suatu peristiwa berpendarnya zat-zat tertentu yang disebabkan oleh penyinaran,, dimana akan tetap memancarkan sinar meskipun penyinarannya di hentikan

Gelombang transversal : gelombang yang arah rambatannya tegak lurus dengan arah getarannya

Indeks bias pada medium : perbandingan antara kecepatan cahaya dalam ruang hampa udara dengan cepat rambat cahaya pada suatu medium.

Interferensi : paduan dua gelombang atau lebih menjadi satu gelombang baru.

Interferometri : suatu metode atau teknik yang digunakan untuk mengamati dan menginvestigasi fenomena gelombang optik dengan cara membentuk pola interferensi dari gelombang cahaya

Konduktor : bahan yang dapat dengan mudah menghantarkan arus listrik

Larutan blanko : larutan yang tidak mengandung analat untuk dianalisis

Lensa atau sering disebut kanta : sebuah alat untuk mengumpulkan atau menyebarkan cahaya, biasanya dibentuk dari sepotong gelas yang dibentuk

Nilai Rf (*retordation factor*) : perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa pada permukaan fase diam dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut sebagai fase gerak

Panjang gelombang : sebuah jarak antara satuan berulang dari sebuah pola gelombang. Biasanya memiliki denotasi huruf Yunani lambda (λ). Dalam sebuah gelombang sinus, panjang gelombang adalah jarak antara puncak

Reagent : suatu zat yang berperan dalam suatu reaksi kimia atau diterapkan untuk tujuan analisis

Serat optic : saluran transmisi atau sejenis kabel yang terbuat dari kaca atau plastik yang sangat halus dan lebih kecil dari sehelai rambut, dan dapat digunakan untuk mentransmisikan sinyal

cahaya dari suatu tempat ke tempat lain

Sudut Brewster	**:**	sudut dengan sinar pantul sepenuhnya terpolarisasi tegak lurus terhadap bidang datang, dengan kata lain tidak terdapat komponen medan listrik sejajar bidang datang yang dipantulkan
Warna Komplementer (Complementary Color)	**:**	warna-warna yang saling berseberangan antara satu dengan yang lainnya, sehingga warna-warna ini akan sangat kontras

I. PENDAHULUAN

A. Deskripsi

Mata pelajaran Dasar Analisis Fisikokimia I merupakan kumpulan bahan kajian dan pembelajaran tentang prinsip, teknik dan metode analisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri, polarimetri, spektrofotometri, kolorimetri, konduktometri, potensiometri dan kromatografi.

B. Prasyarat

Sebelum mempelajari buku ini sebelumnya siswa mengetahui tentang :

Teknik Dasar Laboratorium

Siswa sudah mempunyai kemampuan untuk:

1. Menggunakan peralatan gelas dan non gelas.
2. Menimbang dan mengukur volume dengan benar.
3. Melakukan penanganan bahan kimia.
4. Membuat reagensia.

Mata pelajaran sebagai prasyarat adalah :

1. Dasar pengendalian mutu hasil pertanian dan perikanan
2. Teknik pengambilan contoh

C. Pentunjuk Penggunaan

Buku teks ini merupakan bahan ajar untuk mencapai Kompetensi dasar menyangkut kegiatan dasar analisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara fisikokimia.

Petunjuk bagi Siswa

1. Baca dan pelajari isi bahan ajar dengan baik dan berurutan, tahap demi tahap.
2. Catat hal-hal yang belum dipahami dan diskusikan dengan guru.
3. Kerjakan tugas -tugas yang terdapat dalam bahan ajar. Sediakan buku khusus untuk mencatat hasil–hasilnya.
4. Identifikasi semua bahan dan perlengkapan yang akan digunakan. Jika ada yang tidak tersedia di tempat belajar, cari informasi tentang tempat dan cara untuk mendapatkannya.
5. Kerjakan prosedur standar secara berurutan. Catat setiap hasil kerja yang diperoleh dan laporkan kepada guru.
6. Guru akan bertindak sebagai fasilitator, motivator dan organisator dalam kegiatan pembelajaran ini.

Peran Guru, antara lain :

1. Membantu siswa dalam memahami konsep dan praktik serta menjawab pertanyaan siswa mengenai proses belajar siswa.
2. Membimbing siswa melalui tugas-tugas pelatihan yang dijelaskan dalam tahap belajar.
3. Membantu siswa untuk menentukan dan mengakses sumber tambahan lain yang diperlukan untuk belajar.
4. Mengorganisasikan kerja kelompok jika diperlukan.
5. Merencanakan proses penilaian dan menyiapkan perangkatnya.
6. Melaksanakan penilaian
7. Menjelaskan kepada siswa tentang sikap, pengetahuan dan keterampilan dari suatu kompetensi, yang belum memenuhi tingkat kelulusan dan perlu untuk remedial.
8. Mencatat pencapaian kemajuan siswa.

D. Tujuan Akhir

Mata pelajaran Dasar Analisis Fisikokimia bertujuan untuk:

1. Menyadari kebesaran Tuhan yang menciptakan bumi dan seisinya khususnya tumbuhan dan hewan sebagai hasil pertanian dan perikanan yang dimanfaatkan manusia sebagai kebutuhan pokok untuk tumbuh dan berkembang;
2. Menunjukkan perilaku ilmiah (memiliki rasa ingin tahu; objektif; jujur; teliti; cermat; tekun; ulet; hati-hati; bertanggung jawab; terbuka; kritis; kreatif; inovatif dan peduli lingkungan) dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi sikap ilmiah dalam melakukan percobaan dan berdiskusi;
3. Menghargai kerja individu dan kelompok dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melaksanakan percobaan dan melaporkan hasil percobaan;
4. Memupuk sikap ilmiah yaitu jujur, obyektif, terbuka, ulet, kritis dan dapat bekerjasama dengan orang lain;
5. Mengembangkan pengalaman menggunakan metode ilmiah untuk merumuskan masalah, mengajukan dan menguji hipotesis melalui percobaan, merancang dan merakit instrumen percobaan, mengumpulkan, mengolah, dan menafsirkan data, serta mengkomunikasikan hasil percobaan secara lisan dan tertulis;
6. Menguasai konsep dan dan mampu menerapkan prinsip mutu dan menganalisis faktor mutu serta mempunyai keterampilan mengembangkan pengetahuan dan sikap percaya diri sebagai bekal kesempatan untuk melanjutkan pendidikan pada jenjang yang lebih tinggi serta mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang pengendalian mutu industri pertanian

E. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
1. Menghayati dan mengamalkan ajaran agama yang dianutnya	1.1 Meyakini adanya keragaman mutu bahan hasil pertanian dan perikanan yang merupakan anugerah Tuhan perlu di analisis pada pembelajaran

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
	dasar analisis fisikokimia sebagai amanat untuk kemaslahatan umat manusia.
2. Menghayati dan mengamalkan perilaku jujur, disiplin, tanggung jawab, peduli (gotong royong, kerjasama, toleran, damai), santun, responsif dan pro-aktif dan menunjukkan sikap sebagai bagian dari solusi atas berbagai permasalahan dalam berinteraksi secara efektif dengan lingkungan sosial dan alam serta dalam menempatkan diri sebagai cerminan bangsa dalam pergaulan dunia.	2.1. Menunjukkan perilaku ilmiah (memiliki rasa ingin tahu; objektif; jujur; disiplin; teliti; cermat; tekun; hati-hati; bertanggung jawab; terbuka; kritis; kreatif; inovatif dan peduli lingkungan) dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi sikap dalam melakukan percobaan dan berdiskusi pada pembelajaran dasar analisis fisiko kimia 2.2. Menunjukkan sikap santun, responsif dan pro-aktif dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melakukan diskusi pada pembelajaran dasar analisis fisiko kimia 2.3. Menghargai kerja individu dan kelompok dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melakukan percobaan dan melaporkan hasil percobaan pada pembelajaran dasar analisis fisiko kimia
3. Memahami, menerapkan dan menganalisis pengetahuan faktual, konseptual, prosedural dan metakognitif berdasarkan rasa ingin tahunya tentang ilmu pengetahuan, teknologi, seni, budaya, dan humaniora dalam wawasan kemanusiaan, kebangsaan, kenegaraan, dan peradaban terkait fenomena dan kejadian dalam bidang kerja yang spesifik untuk memecahkan masalah	3.1 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri 3.2 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri 3.3 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri 3.4 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri 3.5 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
	3.6 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri 3.7 Menerapkan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi
4. Mengolah, menalar dan menyaji dalam ranah konkret dan ranah abstrak terkait dengan pengembangan dari yang dipelajarinya di sekolah secara mandiri, bertindak secara efektif dan kreatif dan mampu melaksanakan tugas spesifik dibawah pengawasan langsung.	4.1 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri 4.2 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri 4.3 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri 4.4 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri 4.5 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri 4.6 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri 4.7 Melaksanakan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi

F. Cek Kemampuan Awal

Jawablah pertanyaan dibawah ini dengan memberikan jawaban YA/TIDAK disebelah nomor urut pada tabel dibawah ini

No	Kemampuan	Ya	Tidak
1	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri?		
2	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri?		
3	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Polarimetri?		

4	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Polarimetri?		
5	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Spektrofotometri?		
6	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Spektrofotometri?		
7	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Kolorimetri?		
8	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Kolorimetri?		
9	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Konduktometri?		
10	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Konduktometri?		
11	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Potensiometri?		
12	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Potensiometri?		
13	Apakah Anda dapat menjelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Khromatografi?		
14	Apakah Anda dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara Khromatografi?		

Bila ada salah satu jawaban Anda adalah “Tidak” dari semua pertanyaan, maka Anda disarankan untuk mengikuti pembelajaran dalam bahan ajar ini.

II. PEMBELAJARAN

KEGIATAN PEMBELAJARAN 1. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN DAN PERIKANAN SECARA REFRAKTOMETRI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri ini membahas tentang prinsip dasar pengujian secara refraktometri, alat untuk pengujian secara refraktometri, dan cara pengujian secara refraktometri.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri.

2. Uraian Materi

Refraktometri adalah suatu metoda analisa yang berdasarkan atas pengukuran besaran fisika (refraksi). Dalam analisa instrumen, besaran fisika dapat dibedakan atas dua kelompok, yaitu besaran fisika selektif dan besaran fisika non selektif. Besaran fisika selektif adalah besaran fisika yang dimiliki oleh suatu komponen dalam zat dan apabila bercampur dengan besaran fisika lainnya maka nilainya tidak berpengaruh. contoh : frekuensi dan kecepatan radiasi. Besaran non-selektif adalah besaran fisika yang nilainya berubah bila ada senyawa atau besaran fisika lainnya dalam campuran. contoh : indeks bias dan warna.

Sebelum lebih jauh mempelajari prinsip dasar pengujian secara refraktometri, coba anda lakukan kegiatan berikut ini :

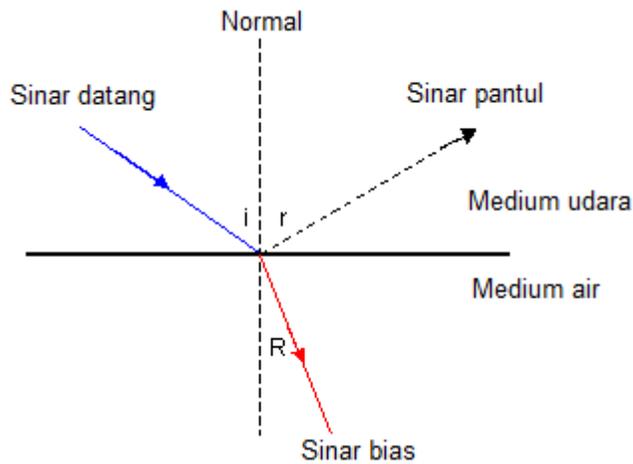
Buatlah kelompok diskusi, terdiri atas 4-5 orang!

Langkah-langkah pengamatan:

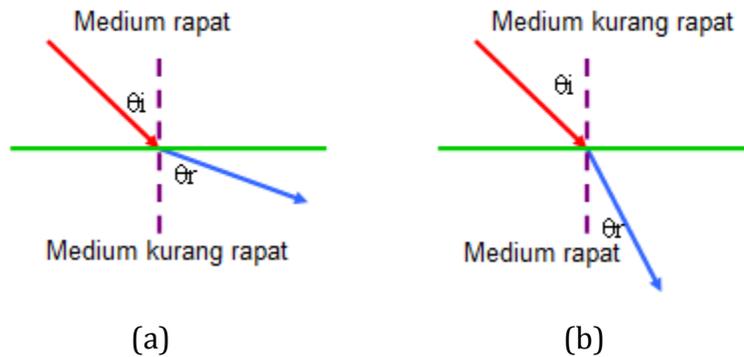
1. Sebuah pensil setengah bagiannya dimasukkan ke dalam gelas yang berisi air!
2. Amati yang terjadi!
3. Apakah pensil yang ada di atas air dengan pensil yang ada di dalam air terlihat lurus?
4. Diskusikan secara kelompok !
5. Buatlah kesimpulan !
6. Presentasikan hasil kesimpulan kelompok !

Selain peristiwa pembiasan cahaya pada kegiatan mengamati sebuah pensil dimasukkan ke dalam air, Anda juga bisa mengamati pembiasan cahaya di kehidupan sehari-hari misalnya dasar kolam (kolam renang atau kolam yang airnya jernih) terlihat lebih dangkal bila dilihat dari atas atau posisi ikan dalam akuarium yang terlihat lebih ke atas dari yang sebenarnya.

Banyak peristiwa alam atau fenomena alam yang disebabkan oleh keberadaan cahaya. Spektrum gelombang elektromagnetik yang dimiliki cahaya mempunyai panjang gelombang antara 380 – 780 nm. Sedangkan sifat-sifat gelombang elektromagnetik cahaya yaitu dapat dipantulkan (refleksi), dibiaskan (refraksi), dilenturkan (defraksi), dan digabungkan (interferensi).

Jika cahaya melintas dari suatu medium ke medium yang lainnya, maka sebagian cahaya dipantulkan dan sebagian lainnya dibiaskan, pembiasan tersebut tergantung dari indeks bias pada medium yang dilewati cahaya. Pembiasan cahaya pada medium yang dilewati cahaya merupakan peristiwa pembelokan sinar masuk dari suatu medium ke medium lain yang berbeda kerapatannya sehingga arah sinar diubah arahnya. Berikut ini Gambar 1 Pemantulan dan pembiasan cahaya, seberkas sinar datang melewati udara kemudian melewati air, maka aka ada sinar pantul dan sinar bias.

Gambar 1. Pemantulan dan pembiasan cahaya

Arah pembiasan cahaya dibedakan menjadi dua macam yaitu mendekati garis normal atau mendekati garis normal, seperti terlihat pada Gambar 2. Arah pembiasan cahaya berikut ini.

(a) (b)

Gambar 2. Arah Pembiasan Cahaya

Pada Gambar 2.a adalah cahaya dibelokkan menjauhi garis normal dan Gambar 2.b adalah cahaya di belokan mendekati garis normal. Cahaya dibiaskan menjauhi garis normal jika cahaya merambat dari medium rapat ke kurang rapat, contohnya cahaya merambat dari udara kedalam air. Sedangkan cahaya dibiaskan mendekati garis normal jika cahaya merambat dari medium kurang rapat ke medium rapat, contohnya cahaya merambat dari dalam air ke udara.

Hukum tentang pembiasan cahaya dikenal dengan hukum Snellius, yaitu:

- Perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias selalu tetap.
- Jika sinar datang dari medium rapat ke medium yang kurang rapat, sinar akan dibiaskan menjauhi garis normal.
- Jika sinar datang dari medium yang kurang rapat ke medium yang rapat, maka sinar akan dibiaskan mendekati garis normal.
- Jika sinar datang tegak lurus bidang maka sinar tidak dibiaskan melainkan diteruskan.

Indeks bias adalah perbandingan kecepatan rambat cahaya dalam ruang hampa dengan kecepatan cahaya pada suatu medium. Indeks bias ini merupakan salah satu dari beberapa sifat optis yang penting dari medium. Indeks bias memainkan peran yang cukup penting di dalam beberapa bidang diantaranya adalah dalam bidang kimia, pengukuran terhadap indeks bias secara luas telah digunakan antara lain untuk mengetahui konsentrasi larutan dan mengetahui komposisi bahan-bahan penyusun larutan. Indeks bias juga dapat digunakan untuk mengetahui kualitas suatu larutan.

Dalam bidang industri makanan dan minuman, indeks bias dapat digunakan untuk mengetahui besarnya konsentrasi gula dalam produk makanan dan minuman, seperti contoh untuk mengetahui kandungan gula dalam jus buah, kandungan gula dalam kue, dan lain-lain. Indeks bias suatu larutan dapat diukur dengan menggunakan beberapa metode antara lain dengan metode interferometri yang meliputi interferometri Mach-Zender, interferometri Fabry-Perot dan interferometri Michelson (Pedrotti dan Pedrotti, 1993). Metode-metode ini merupakan metode yang sangat akurat untuk mengukur indeks bias. Akan tetapi metode-metode tersebut mempunyai beberapa kelemahan, antara lain pengoperasian alat yang cenderung rumit dan membutuhkan waktu yang lama.

Metode lain yang sering digunakan untuk mengukur indeks bias adalah dengan menggunakan spektrometer. Spektrometer terdiri atas beberapa bagian, yaitu sumber cahaya monokromatik, prisma atau kristal dan teropong. Penentuan indeks bias dengan metode ini adalah dengan mengamati sudut deviasi minimum dari cahaya monokromatik yang berasal dari sumber yang keluar dari prisma atau kristal yang ditangkap oleh teropong. Metode ini juga cukup akurat untuk mengukur indeks bias. Namun demikian, metode ini juga mempunyai kelemahan yaitu selain pengoperasian alat yang rumit, metode ini membutuhkan sampel penelitian dalam jumlah yang banyak dan juga membutuhkan waktu yang lama.

Metode lain yang juga sering digunakan untuk mengukur indeks bias adalah dengan menggunakan refraktometer. Metode ini merupkan metode yang sederhana. Sampel yang digunakan juga relatif lebih sedikit dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya.

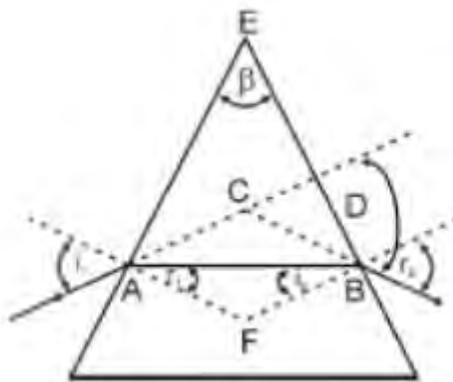
Mengenal Refraktometer

Refraktometer adalah alat yang digunakan untuk menentukan konsentrasi atau kadar dari bahan terlarut dengan memanfaatkan indeks bias suatu cahaya seperti gula dan garam. Indeks bias adalah kecepatan cahaya di ruang hampa dengan kecepatan cahaya pada zat tersebut atau perbandingan dengan sinus sudut datang dengan sinus sudut bias. Nilai pada indeks bias suatu zat terlarut selalu berubah tergantung nilai suhu dan panjang gelombang yang dibiaskan.

Prinsip kerja alat refraktometer menggunakan prisip pembiasan. Jika sampel merupakan larutan dengan konsentrasi rendah maka yang terjadi sudut refraksi akan lebar dikarenakan perbedaan refraksi dari prisma dan sampel besar. Maka skala yang terbaca akan jatuh pada skala rendah. Sedangkan, jika sampel dengan konsentrasi tinggi maka sudut refraksi akan kecil karena perbedaan refraksi prisma dan sampel kecil.

Proses Terjadinya Pembiasan Cahaya Pada Prisma

Prisma adalah zat bening yang dibatasi oleh dua bidang datar. Apabila seberkas sinar datang pada salah satu bidang prisma yang kemudian disebut sebagai bidang pembias I, akan dibiaskan mendekati garis normal. Sampai pada bidang pembias II, berkas sinar tersebut akan dibiaskan menjauhi garis normal.

Pada bidang pembias I, sinar dibiaskan mendekati garis normal, sebab sinar datang dari zat optik kurang rapat ke zat optik lebih rapat yaitu dari udara ke kaca. Sebaliknya pada bidang pembias II, sinar dibiaskan menjahui garis normal, sebab sinar datang dari zat optik rapat ke zat optik kurang rapat yaitu dari kaca ke udara. Sehingga seberkas sinar yang melewati sebuah prisma akan mengalami pembelokan arah dari arah semula. Gambar 3 menunjukkan pembiasan cahaya pada prisma.

Gambar 3. Pembiasan cahaya pada prisma

Refraktometer memiliki beberapa bagian penting diantaranya prisma, lensa, bimetal strips, dan pemutar skala.

Mengenal refraktometer

1. Buatlah kelompok bersama teman Anda!
2. Amati bagian-bagian refraktometer!
3. Diskusikan dan deskripsikan fungsi dari masing-masing bagian refraktometer!
4. Buatlah kesimpulan hasil diskusi kelompok!
5. Presentasikan hasil pengamatan Anda!

Bagian- bagian dari refraktometer:

- Day light plate (kaca)

  Day light plate berfungsi untuk melindungi prisma dari goresan akibat debu, benda asing, atau untuk mencegah agar sampel yang diteteskan pada prisma tidak menetes atau jatuh.

- Prisma (biru)

  Prisma merupakan bagian yang paling sensitif terhadap goresan. Prisma berfungsi untuk pembacaan skala dari zat terlarut dan mengubah cahaya polikromatis (cahaya lampu/matahari) menjadi monokromatis.

- Knop pengatur skala

  Knop pengatur skala berfungsi untuk mengkalibrasi skala menggunakan aquades. Cara kerjanya ialah knop diputar searah atau berlawanan arah jarum jam hingga didapatkan skala paling kecil (0.00 untuk refraktometer salinitas, 1.000 untuk refraktometer urine).

- Lensa

  Lensa berfungsi untuk memfokuskan cahaya yang monokromatis.

- *Handle*

  Handle berfungsi untuk memegang alat refraktometer dan menjaga suhu agar stabil.

- *Bimatal strip*

  Bimetal strip terletak pada bagian dalam alat (tidak terlihat) dan berfungsi untuk mengatur suhu sekitar 18 – 28 ^{0}C. Jika saat pengukuran suhunya mencapai kurang dari 18 ^{0}C atau melebihi 28 ^{0}C maka secara otomatis refraktometer akan mengatur suhunya agar sesuai dengan *range* yaitu 18 – 28 ^{0}C.

- Lensa pembesar

  Sesuai dengan namanya, lensa pembesar berfungsi untuk memperbesar skala yang terlihat pada *eye piece.*

- *Eye piece*

  Eye piece merupakan tempat untuk melihat skala yang ditunjukkan oleh refraktometer.

- *Skala*

  Skala berguna untuk melihat *,* konsentrasi, dan massa jenis suatu larutan.

Ada tiga jenis refraktometer yang dikenal, yaitu: Hand Refraktometer, Refraktometer Imersi, Refraktometer ABBE.

a) Hand Refraktometer

Macam-macam hand refraktometer:

- Hand Refraktometer brik untuk gula 0 – 32 %
- Hand Refraktometer salt untuk NaCl 0 – 28 %

Gambar 4. Hand Refratometer brik 0 – 32%

Sumber: http://www.lncurtis.com/storeimages/proc/600x600/fwld-foa-davi-430-0000-000.jpg

Pada hand refraktometer, indeks biasnya sudah dikonversikan sehingga dapat langsung dibaca kadarnya. Alat ini biasanya hanya untuk mengukur kadar zat tertentu saja. Perbedaan dengan refraktometer lain adalah hand refraktometer mempunyai 1 lubang pengamatan.

(1) Cara penggunaan hand refraktometer adalah sebagai berikut:

- Refraktometer dibersihkan terlebih dahulu dengan tisu ke arah bawah
- Refraktometer ditetesi dengan aquadest atau larutan NaCl 5% pada bagian prisma dan day light plate
- Refraktometer dibersihkan dengan kertas tissue sisa aquadest / NaCl yang tertinggal
- Sampel cairan diteteskan pada prisma 1 – 3 tetes
- Skala kemudian dilihat ditempat yang bercahaya dan dibaca skalanya

- Kaca dan prisma dibilas dengan aquades / NaCl 5% serta dikeringkan dengan tisu, dan
- Refraktometer disimpan di tempat kering

(2) Pemeliharaan hand refraktometer :

- Setelah dipakai prisma dibersihkan sampai kering
- Kalibrasi dengan aquades sampai batas biru putih yang menunjukan skala 0.

(3) Cara Pembersihan

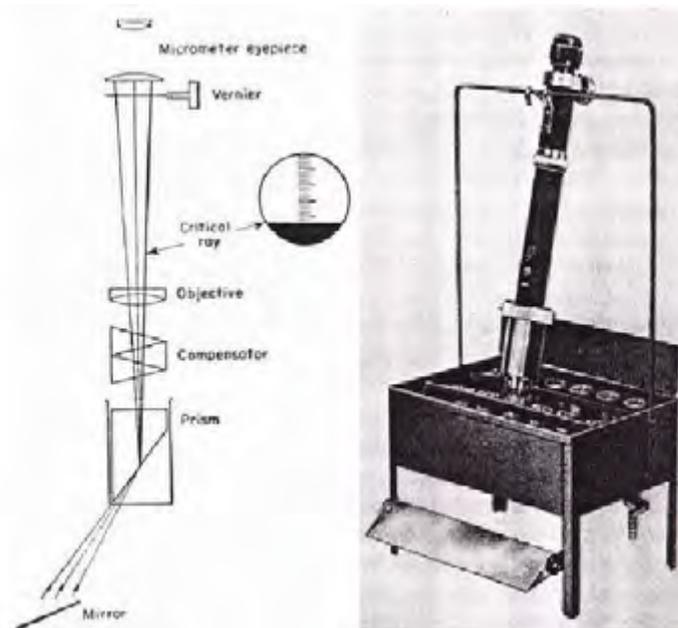
- Day light plate pada refraktometer dibuka
- Bersihkan sampel pada bidang prisma dengan menggunakan tissu kering dengan cara diusapkan ke sampel secara perlahan-lahan & hati-hati
- Refraktometr setelah dibersihkan dengan tissue lalu dibersihkan menggunakan kertas lensa
- Penutup prisma ditutup secara perlahan-lahan dan disimpan.

(4) Prosedur kalibrasi hand refraktometer

- Letakkan satu atau dua tetes aquadest diatas kaca prisma
- Tutup penutup kaca prisma dengan perlahan
- Pastikan aquadest memenuhi permukaan kaca prisma
- Pembacaan : skala, melalui lubang teropong,pastikan garis batas biru tepa pada skala 0^0Brix(% mark sukrosa)
- Jika garis batas biru tidak tepat pada skala 0^0Brix, putar skrup pengatur skala hingga garis batas biru tetpat pada skala 0^0Brix

b) Refraktometer Imersi (Refraktometer Celup)

Jenis refraktometer ini paling sederhana digunakan, tetapi memerlukan 10-15 ml sampel. Refraktometer ini menggunakan cahaya buatan dan cahaya

putih, dan terdiri dari kompensator Amici. Prisma tunggal dibingkai kuat di dalam teleskop yang berisi kompensator dan bukaan mata (eyepiece) seperti yang ditunjukkan di Gambar 5 Refraktometer Imersi. Skala ditempatkan di bawah bukaan mata di dalam tabung. Permukaan lebih bawah prisma itu dicelupkan ke dalam gelas Beaker kecil yang berisi sampel dengan kaca di bawah untuk merefleksikan cahaya melewati cairan. Instrumen lengkap pada posisinya, dengan penangas air untuk menjaga temperatur refraktometer tetap konstan.

Gambar 5. Refraktometer Imersi

Skala yang ditempatkan pada bidang yang dilihat mata dibuat berskala dari -5 sampai +105. Medan akan sebagian gelap dan sebagian terang, terpisah oleh garis tajam. Posisi garis dibaca pada skala, dan kesepuluh divisi ditemukan dengan memutar skrup mikrometer di atas instrumen, yang menggeser skala ke arah garis batas sampai menutupi divisi skala numerik lebih rendah yang

dicatat sebagai hasil pengamatan. Gambar pada drum mikrometer lalu menunjukkan desimal yang harus ditambahkan. Perubahan divisi 0,01 berkaitan dengan n_D ± 0,000037. Oleh karena itu, refraktometer imersi memberi ketelitian lebih besar pada pembacaannya daripada refraktometer jenis lain, kecuali refraktometer interferensi.

Saat indeks refraksi berubah dengan perubahan temperatur, maka kondisi temperatur standar harus dipilih. Sayangnya 17,5^{o}C agak sulit dibuat. Larutan yang akan diuji ditempatkan di dalam gelas Beaker sangat kecil yang didesain khusus dan ditempatkan di rak di dalam penangas air yang diiluminasi bawahnya. Arus air pada temperatur tertentu dilewatkan melintasi penangas. Hal ini dapat dilakukan dengan mengalirkan air keran dari tanki berlevel konstan ke penangas dengan laju sesuai. Dapat juga menggunakan penangas dengan temperatur konstan.

Refraktometer yang sudah dikoreksi, sebaiknya menunjukkan pembacaan temperatur air sebagai berikut:

15,5	18^{o}	14,9	22^{o}	14,0
15,3	19^{o}	14,7	23^{o}	13,75
15,1	20^{o}	14,5	24^{o}	13,5
15,0	21^{o}	14,25	25^{o}	13,25

Temperatur sebaiknya tidak berbeda lebih dari 0,1^{o}C, karena pembacaan dilaporkan hingga ke skala 0,01. Nilai pembacaan yang ingin dikonversi ke konsentrasi, maka harus menggunakan tabel yang paling terkenal, yaitu tabel Wagner. Tabel ini dapat diperoleh dari supplier instrumen itu. Tabel ini hanya menggunakan temperatur 17,5^{o} dan tidak ada rumus untuk mengkonversinya ke temperatur yang lain, tetapi ada juga tabel metil dan etil alkohol untuk temperatur lain. Pembacaan itu dapat dikonversi ke indeks refraksi dengan menggunakan tabel referensi yang berasal dari instrumen.

Rentang instrumen dengan prisma 1 adalah 1,325 – 1,367. Rentang ini meliputi seluruh larutan garam dan alkohol. Untuk nilai yang lebih tinggi, perlu prisma tambahan yang memperbesar rentang hingga 1,492. Rentang refraktometer imersi lebih sempit daripada refraktometer Abbe, tetapi refraktometer imersi lebih sensitif daripada refraktometer Abbe.

Kerugian pengujian dengan refraktometer imersi adalah perlu berhati-hati mengatur temperatur. Refraktometer imersi mengukur konsentrasi lebih teliti dan lebih cepat daripada dengan menggunakan pengukuran densitas biasa yaitu dengan hidrometer. Misalnya, di asumsikan pengendalian temperatur sudah cukup teliti hingga skala 0,02 dengan bobot zat berikut ini per 100 ml: 24 mg metil alkohol; 12 mg etil alkohol; 4 mg amonium klorida; 10 mg asam perklorat.

Kita dapat menentukan setiap komponen campuran dengan refraktometer. Misal campuran metil dan etil alkohol. Derajat ketelitian pengukuran akan lebih baik apabila tidak ada komponen lain. Baik densitas dan indeks refraksi hanya mengukur jumlah total zat-zat di dalam larutan. Tidak penting berapa banyak perbedaan yang mungkin ada di dalam zat-zat itu.

c) Refraktometer ABBE

Refraktometer Abbe memiliki rentang indeks refraksi dari: n = 1,30 – 1,71 dan 1,45 –1,84, kecuali pada beberapa model terbaru. Reprodusibilitas pembacaan indeks refraksinya adalah ± 0,0002. Instrumen ini membaca indeks refraksi secara langsung, butuh waktu lama hingga mendapatkan hasilnya, hanya memerlukan setetes sampel, dan hasil pengukuran dispersi parsialnya baik.

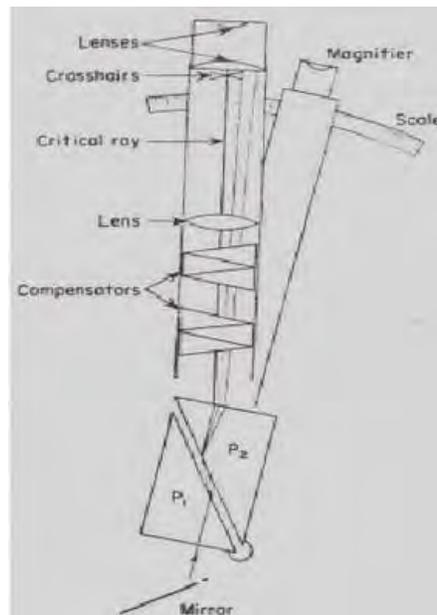
Refraktometer Abbe tidak cocok untuk mengukur indeks refraksi dari larutan yang memiliki komponen volatil atau berbentuk padatan, karena

ketelitiannya akan berkurang. Sampel padat dapat disisipkan ke permukaan prisma Abbe yang bawah. Spesimen yang permukaan bidangnya bening dibuat sedemikian rupa agar kontak optik dengan muka prisma, yaitu dengan cara meletakkan tetes cairan ke permukaan prisma atau dengan cara menekan dengan hati-hati padatan ke tempatnya. Sebagai cairan kontaknya digunakan cairan 1-bromonaftalena (n_D =. 1,68)

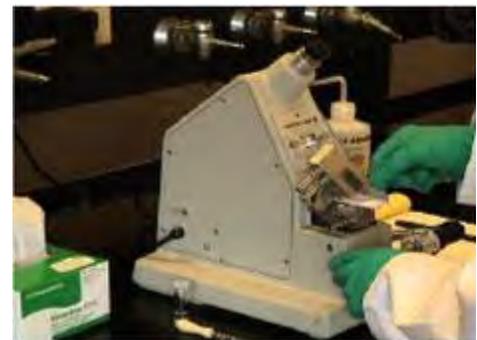
Cahaya putih (white light) digunakan untuk menghindari warna akibat batas tak jelas antara cahaya dan bidang gelap. Peristiwa ini disebabkan oleh perbedaan indeks refraksi cahaya dengan panjang gelombang berbeda-beda yang berasal dari cahaya putih. Dua prisma visi-langsung, disebut prisma Amici ditempatkan di atas lainnya di muka lensa objektif teleskop. Prisma Amici dibuat dari kaca dan didesain agar tidak mendeviasi cahaya garis natrium D. Cahaya dengan panjang gelombang lain akan terdeviasi. Dengan cara merotasi prisma Amici ini maka dapat meniadakan dispersi cahaya pada antarmuka cairan.

Ernst Abbe (1840-1905) seorang ahli fisika dan bapak dari teknologi optik modern pada tahun 1869 merancang refraktometer yang kemudian diberi nama Refraktometer ABBE. Ernst Abbe adalah pendiri Perusahaan Carl Zeiss Jena Optical dan Schott Glasswerk. Refrakto meter Abbe merupakan refraktometer standar. Larutan yang dibutuhkan sangat sedikit dan pengerjaannya lebih efisien, sehingga sering digunakan di laboratorium. Berikut ini Gambar 6. Refraktometer Abbe.

Gambar 6. Dua jenis Refraktometer Abbe yang modern (tipe Abbe 60/95 dan Abbe 5)

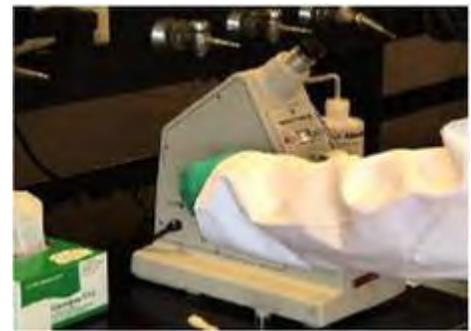
Instrumen dan bagian-bagian pentingnya ditunjukkan pada Gambar 7. Bagian-bagian Refraktometer Abbe. Cahaya yang direfleksikan dari kaca akan melewati ke prisma iluminasi P_1. Kaca yang permukaan atasnya diasah kasar. Permukaan kasar berlaku sebagai sumber dari sejumlah cahaya tak terhingga, dimana cahaya itu akan melewati lapisan cairan 0,1 mm dari seluruh arah. Cahaya ini lalu masuk ke permukaan prisma P_2 yang digosok, selanjutnya cahaya direfraksi. Sinar kritis membentuk batas antara medan bagian terang dan gelap ketika dilihat dengan teleskop yang bergerak bersamaan dengan skala. Skala berada di teleskop pembaca. Temperatur harus dikendalikan di antara ± 0,2^{o}C. Instrumen diisi dengan casing prisma dimana air dapat lewat di sana. Termometer pendek disisipkan ke jaket air. Pengendali temperatur paling baik adalah pompa sirkulasi kecil yang berfungsi untuk melewatkan air dari thermostat ke casing prisma. Reprodusibilitas tercapai apabila menggunakan refraktometer Abbe yang lebih teliti. Ada tiga rentang ditawarkan secara komersil, yaitu 1,30 – 1,50; 1,40 – 1,70; dan 1,33 – 1,64. Pembacaan indeks refraksi dapat direproduksi di antara ± 2 x 10-5 sampai ± 6 x 10-5 apabila temperatur dijaga di antara ± 0,02^{o}C.

Gambar 7. Bagian-bagian Refraktometer Abbe

Berikut ini cara menggunakan Refraktometer Abbe

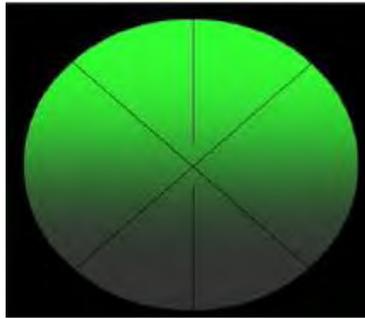
1. Beberapa lab menyimpan refraktometer dengan sepotong tisu di prismanya untuk menjaga agar kaca prisma tidak tergores

2. Buka prisma dan pindahkan tisunya

3. Pakai pipet untuk mengambil cairan ke prisma.

4. Hati-hati jangan sampai ujung pipet menggores kaca prisma

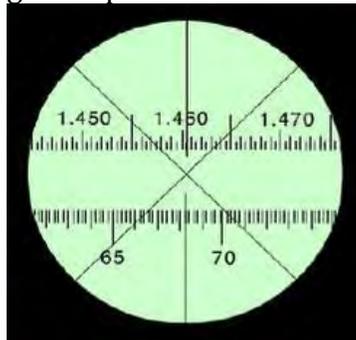
5. Tutup kembali prisma

6. Nyalakan lampu “on” di sisi kiri

7. Tepatkan lampu sehingga menyinari prisma

8. Lihat dengan mata

9. Jika cahaya mendekati indeks refraksi, sampel anda akan tampak seperti ini. Batas bagian bawah dan bagian atas tidak jelas

10. Jika anda tidak dapat melihat bagian terang dan gelap, putar kenop di sisi kanan sampai anda melihat bagian gelap dan terang

11. Sebelum membuat penentuan akhir. Tentukan dahulu posisi lampu dan pastikan adanya garis batas daerah gelap dan terang dengan kompensator di bagian depan reflektometer

12. Saat sudah terlihat seperti gambar di atas, putar kenop ke kanan hingga garis batas tepat di tengah persilangan (di gambar selanjutnya)

13. Skala atas menunjukkan indeks refraksi. Dengan hati-hati kita dapat 4 desimal. Sampel di atas menunjukkan pembacaan 1,4606. Baca termometer dan catat indeksrefraksi dan temperatur pengukurannya

14. Kemudian baca termometer dan catat temperaturnya

15. Setelah selesai, lap dengan tissu lalu bersihkan minyak/oil yang masih ada

16. Lalu cuci dengan pelarut, biasanya alkohol sederhana seperti metil alkohol untuk membersihkan senyawa organik

17. Gerakan mengoles lebih baik daripada gerakan menggesek, karena akan meminimumkan cacat goresan pada prisma

18. Setelah membersihkan, sisipkan tissu bersih di antara dua prisma dan jangan lupa mematikan lampu

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini. Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

Lembar Kerja:

(1) Menganalisis bahan hasil pertanian secara refraktometri

Tujuan : Siswa diharapkan dapat menganalisis bahan hasil pertanian secara refraktometri

Alat :

- Abbe Refraktometer
- Hand Refratometer
- Gelas ukur
- Batang pengaduk
- Pipet tetes

Bahan :

- Minyak sereh
- Kayu putih
- Minyak Kenanga
- Minyak pala
- Tissu dan Kapas
- Alkohol

Langkah Kerja:

Dibawah ini adalah cara melakukan penetapan indeks bias menggunakan alat ABBE Refraktometer:

- Keluarkan ABBE Refraktometer dari kotak kayu dengan cara memutar sekrup ke kiri pada bagian bawah kotak.
- Bukalah prisma yang terkunci. Bersihkan prisma dan lempeng pengkajinya. Prisma jangan sampai tergores.
- Teteskan 1 tetes bromonaphtalene pada prisma.

- Letakkan lempeng pengkaji pada cairan dengan bagian yang licin menghadap sumber cahaya. Gerakkan lempeng pengkaji sehingga daerah kotak seluruhnya terisi. Usahakan tidak ada cairan pada sisi-sisinya.
- Putar sekerup yang besar untuk mengatur sekala indeks yang sesuai dengan nilai yang ada pada lempeng pengkaji. Jangan lupa buka celah pada bagian samping kiri.
- Atur lensa penerima sinar pada bagaian bawah alat, sehingga sinar dapat ditangkap lensa sebelah kanan dengan jelas.
- Aturlah dengan menggunakan sekerup besar, sehingga diperoleh gambar terang pada lensa.
- Gunakan sekerup yang kecil untuk mengatur pantulan batas gelap dan terang tepat pada persilangan rambut.
- Gunakan sekerup yang besar untuk dicatat nilai indeks biasnya. Nilai ini harus sesuai (berimpit) dengan nilai yang terdapat pada lempeng pengkaji. Ulangi pengukuran ini beberapa kali dengan mengatur pemantulan garis pisah dari atas dan dari bawah titik silang rambut.
- Kalau indeks bias tidak sama dengan yang terdapat pada lempeng pengkaji, masukkanlah kunci penera pada mur. Kemudian sesuaikan skala dengan nilai yang terdapat pada lempeng pengkaji.

Cara perawatan Alat ABBE Refraktometer:

- Alat harus dijaga dalam keadaan kering dan suhu ruangan harus dalam keadaan baik, untuk menjaga bagian-bagaian optik dari tumbuhnya jamur.
- Jika pengukuran indeks bias telah selesai, alat harus bersih kembali dan disimpan dalam kotak kayu.
- Jangan sekali-kali menyentuh lensa (bagian optik) dengan tangan, apabila lensa kotor segera bersihkan dengan kertas lensa.
- Jangan meninggalkan prisma masih dalam keadaan basah oleh sampel, bila Refraktometer tidak digunakan lagi.

- Apabila alat tidak digunakan harus ditutup, hal ini untuk menghindari vibrasi (getaran) benturan mencegah kerusakan pada optik dan menjaga tingkat ketelitian dalam menentukan indeks bias.

Cara peneraan indeks bias sampel cair :

- Bersihkan prisma sebersih mungkin dengan menggunakan alkohol dan catat temperatur sampel yang ditunjukkan thermometer.
- Alirkan air melalui refraktometer agar alat berada pada suhu pembacaan (suhu ini tidak boleh berada lebih kecil atau lebih besar dari 2^0 C dari suhu pembanding.
- Teteskan sampel pada prisma dengan menggunakan alat pipet tetes. Gunakan sampel secukupnya sampai seluruh permukaan prisma rata.
- Tutuplah prisma dengan cara menguncikan, jaga jangan sampai ada gelembung udara pada sampel yang diperiksa.
- Putar tombol (sekerup kecil) pengatur prisma, sehingga terlihat jelas perbedaan terang dan gelap. Atur batas terang gelap tepat melalui titik diagonal (persilangan) rambut. Atur sekerup besar untuk mengatur warna agar batas terang gelap tidak berwarna.
- Bacalah besarnya indeks bias pada angka yang ditunjukkan oleh skala. Terutama setelah terlihat adanya perbedaan terang dan gelap.
- Pembacaan dilakukan beberapa kali dan setiap pembacaan hanya boleh dilakukan apabila suhu dalam keadaan stabil
- Hasil pembacaan indeks bias belum menunjukkan skala yang sebenarnya, maka harus dikonversikan dengan rumus :

  $$N_d^t = N_d^{t1} + 0{,}004(t1 - t)$$

  Keterangan :

  N_d^t = indeks bias

  N_d^{t1} = pembacaan yang dilakukan pada suhu pengerjaan t1

0,004 = faktor koreksi setiap derajat (^{0}C)

Faktor koreksi untuk indeks bias masing-masing bahan adalah :

– Minyak sereh = 0,0005
– Minyak kayu putih = 0,0004
– Minyak pala = 0,0005
– Minyak cendana = 0,0003
– Minyak akar wangi = 0,0003
– Minyak kenanga = 0,0004

(2) Menganalisis bahan kering gula secara refraktometri (SNI 01-3140.2-2006)

Tujuan : Siswa diharapkan dapat menganalisis bahan kering gula secara refraktometri

Prinsip:

Indeks bias larutan gula tergantung jumlah zat-zat yang terlarut, meskipun demikian dapat digunakan untuk mengukur kandungan gula. Cara ini hanya valid untuk pengukuran larutan gula murni, karena adanya zat selain gula mempengaruhi indeks bias terhadap sakarosa. Oleh sebab itu pengukuran indeks bias dapat digunakan untuk memperkirakan penentuan kandungan zat kering larutan terutama sakarosa. Jika larutan gula mengandung zat tersuspensi dan atau kristal gula, biasanya perlu dilakukan pemanasan.

Alat :

- Refraktometer, dikalibrasi pada suhu 20^{o}C dan mempunyai prisma bermantel air;
- Sumber sinar lampu tungsten;
- Batang plastik diameter ± 3 mm;

Bahan :

- Gula kristal
- Tissu dan Kapas
- Air jernih
- Larutan alkaline copper

- Termometer 150 mm, rentang suhu 0 °C sampai 50 °C;
- Gelas piala 50 ml;
- Penangas air dan pompa (untuk menstabilkan suhu air pada 20°C).

Langkah Kerja:

Pembuatan Larutan Alkaline Copper:

- Larutkan 25 g sodium karbonat dan 25 g potassium sodium tartrate (garam Rochell) dalam 600 ml H_2O yang mengandung 40 ml NaOH 1,0 mol/l dalam labu ukur 1 l;
- Larutkan 6,0 g tembaga sulfat ($CuSO_4.5H_2O$) dengan ± 100 ml H_2O, kemudian pindahkan secara kuantitatif ke dalam larutan alkaline tartrat, tepatkan hingga 1000 ml.

Persiapan contoh:

Untuk contoh yang tidak mengandung zat tersuspensi diproses seperti berikut:

a) Timbang 5,0 g contoh gula dalam tabung reaksi, larutkan dengan 5 ml air suling;
b) Tambahkan 2 ml larutan alkaline copper, kemudian panaskan pada penangas air yang mendidih selama 5 menit, kemudian segera didinginkan pada bak air dingin;

Untuk contoh yang di dalamnya terdapat suspensi gula kristal, maka panaskan larutan gula sampai suhu 60°C atau aduk sampai kristal larut. Dalam keadaan ini penguapan air dalam larutan gula harus dapat dicegah dengan menempatkan larutan gula dalam botol tertutup; setelah Kristal gula larut, dinginkan secepatnya sampai suhu yang diperlukan sebelum pembacaan refraktometer.

Pembacaan refraktometer:

- Pastikan peralatan yang telah dipersiapkan dan diteliti menurut buku panduan alat dan bersihkan permukaan prisma lalu keringkan;
- Selanjutnya alirkan air pengontrol 20 ^{o}C, melalui mantel prisma pada jangka waktu tertentu supaya terjadi keseimbangan suhu ± 5 menit (prisma dalam keadaan tertutup).
- Pindahkan satu tetes air ke prisma refraktometer untuk menentukan titik nol atau digunakan sebagai koreksi.
- Kemudian pindahkan sedikit larutan gula ke dalam gelas piala dan atur suhu larutan gula antara 18 ^{o}C sampai 28 ^{o}C;
- Buka prisma dan teteskan larutan gula ke permukaan prisma. Dengan menggunakan batang plastik, buat larutan gula menyebar ke permukaan prisma, hati-hati jangan sampai tergores prismanya dan juga jangan sampai terbentuk gelembung, secepatnya prisma ditutup;
- Baca refraktometer sesuai dengan petunjuk buku panduan alat;
- Gunakan beberapa skala koreksi untuk mendapatkan pembacaan terkoreksi.

Catatan: Apabila dikerjakan pada suhu selain 20 ^{o}C, maka pembacaan Tabel 1 harus dikoreksi dengan Tabel 2.

Perhitungan:

Bila refraktometer di kalibrasi dalam indeks bias, baca yang terdekat dengan 0,00005 satuan dan dapatkan ^{o} Brix/ "*Refractometric Dry Substance*" (RDS %) pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Skala indek refraksi internasional ICUMSA untuk larutan Sakarosa murni suhu 20°C dan 589 nm

Sakarosa g/100g	0,0	0,1	0,2	0,3	0.4	0,5	0,6	0,7	0.8	0.9
0	1,332986	1,333129	1,333272	1,333415	1 ,333558	1,333702	1,333845	1,333989	1,334132	1,334276
1	1,334420	1,334564	1 ,334708	1,334852	1,334996	1,335141	1,335285	1,335430	1,335574	1,335719
2	1,335804	1,336009	1,336154	1336300	1,336445	1,336590	1,336736	1,336882	1,337028	1,337174
3	1,337320	1,337466	1,337612	1,337758	1,338905	1,338051	1,338198	1,338345	1,338492	1,338639
4	1,338786	1,338933	1,339081	1,339228	1,339376	1,339524	1,339671	1,339819	1,339967	1,340116
5	1,340264	1,140412	1,340561	1,340709	1,340858	1,341007	1,341156	1,341305	1,341454	1,341604
6	1,341753	1,341903	1,342045	1,342202	1,342352	1,342502	1,342652	1,342802	1,342952	1,341103
7	1,343253	1,343404	1,343555	1,343706	1,343857	1,344008	1,344159	1,344311	1,344462	1,344614
8	1,344765	1,344917	1,345069	1,345221	1,345373	1,345526	1,345678	1,345831	1,345983	1,346136
9	1,346289	1,346442	1,346591	1,346748	1,346902	1,347055	1,347209	1,347362	1,347516	1,347670
10	1,347824	1,347978	1,348133,	1,348287	1,348442	1,348596	13 48751	1,348906	1,3 49061	1,349216
11	1,349371	1,349527	1,349682	1,349838	1,349993	1,350149	1,350305	1,350461	1,3 50617	1,350774
12	1,350930	1,351087	1,351243	1,351400	1,351517	1,351714	1,351871	1352029	1,352186	1,352343
13	1,352501	1,352659	1,352817	1,352975	1,353133	1,353291	1,353449	1,353608	1,353767	1,353925
14	1,354084	1,354243	1,354402	1,354561	1,354721	1,354880	1,355040	1,355199	1,355359	1,355519
15	1,355679	1,355840	1,356000	1,356160	1,356321	1,356482	1,356642	1,356803	1,356964	1,357126
16	1,357287	1, 35744	1,357610	1,357772	1,357933	1,358095	1,358257	1,358420	1,358582	1,358744
17	1358907	1,359070	1359232	1,359395	1,359558	1,359722	1,359885	1,360048	1,360212	L360376
18	1,360539	1,360703	1,360867	1,361032	1,361196	1,361360	1,361525	1,361690	1,361854	1,362019
19	1,362185	1,362350	1,362515	1,362681	1,362846	1,363012	1,363178	1,363344	1,363510	1,363676
20	1,363842	1,364009	1,364176	1,364342	1,364509	1,364676	1,364843	1,365011	1,365178	1,365340
21	1,365513	1,365681	1,365849	1,366017	1,366185	1,366354	1,366522	1,366691	1,366859	1367028
22	1,367197	1,367366	1367535	1,367705	1,367874	1,368044	1,368214	1,368384	1,368554	1,368724
23	1,368894	1,369064	1,369235	1,369406	1,369576	1,369747	1,369918	1,370090	1,370261	1,370413
24	1,370604	1,370776	1,370940	1,371120	1,371292	1,371464	1,371637	1,371809	1,371982	1,372155
25	1,372328	1,372501	1,372674	1372847	1,373021	1373194	1,373368	1,373542	1,373716	1,373890

Sakarosa g/100g	0,0	0,1	0,2	0,3	0.4	0,5	0,6	0,7	0.8	0.9
26	1,374065	1,374239	1,374414	1,374588	1,374763	1,374938	1,375113	1,375288	1,375464	1,375639
27	1,375815	1,375991	1,376167	1,376343	1,376519	1,376695	1,376872	1,377049	1,377225	1,377402
28	1377579	1,377756	1,377934	1,378 111	1,378289	1,378467	1,378044	1378822	1,379001	1,379179
29	1379357	1,379536	1,379715	1,379893	1,380072	1,380251	1380431	1,380610	1,380790	1380969
30	1,381149	1,381329	1381509	1,381690	1,381870	1,382050	1382231	1382412	1,382593	1,382774
31	1,382955	1,383137	1,383318	1,383500	1,383682	1,383863	1,384046	1,3 84228	1,384410	1,384593
32	1,384775	1,384958	1,385141	1,385324	1,385507	1385691	1,385874	1,386058	1,386242	1,386426
33	1,386610	1,386794	1,386978	1387163	1387348	1,387532	1,387717	1,387902	1,388088	1,388273
34	L388459	1,388644	1,388830	1,389016	1,389202	1,389388	1,389575	1389761	1,389948	1,390135
35	1,390322	1,390509	1,390696	1,390884	1,391071	1391259	1,391447	1,391635	1391823	1,392011
36	1,392200	1,392388	1,392577	1,392766	1,392955	1,393144	1393334	1393523	1,393713	L393903
37	1,394092	1,394283	1,394473	1,394663	L394854	1,395044	1,395235	1,395426	1,395617	1,395809
38	1,396000	1,396192	1,396383	1,396575	1,396767	1,396959	1,397152	1,397344	1,397537	1,397730
39	1,397912	1,398116	1,398309	1,398502	1,398696	1,398889	1,399083	1,399277	1,399471	1,399666
40	1,199860	1,400055	1,400249	1,400444	1,400639	1,400834	1,401030	1,401225	1,401421	1,401617
41	1,401811	1,402009	1,402205	1,402401	1,402598	1,402795	1,402992	1,403189	1,403386	1,403583
42	1,403781	1,403978	1,404176	1,404374	1,404572	1,404770	1,404969	1,405167	1,405366	1,405565
43	1,405764	1,405963	1,406163	1,406362	1,406562	1,406762	1,406961	1,407162	1,407362	1,407562
44	1,407763	L407964	1,408165	1,408366	1,408567	1,408768	1,408970	1,409171	1,409373	1,409575
45	1,409777	1,409980	1,410182	1,410385	1,410588	1,410790	1,410994	1,411197	1,411400	1,411604
46	1,411808	1,412011	1,412215	1,412420	1,412624	1,412828	1,413033	1,413238	1,413443	1,413648
47	1,413853	1,414059	1,414265	1,414470	1,414676	1,414882	1,415089	1,415295	1,415502	1,415708
48	1,415915	1,416122	1,416330	1,416537	1,416744	1,416952	1,417160	1,417368	1,417576	1,417785
49	1,417993	1,418202	1,41841 1	1,418620	1,418829	1,419038	1,419247	1,419457	1,419667	1,419877
50	1,420087	1,420297	1,420508	1,420718	1,420929	1,421140	1,421351	1 ,421562	1 ,421774	1,421985
51	1,422197	1,422409	1,4226 21	1,422833	1,423046	1,423258	1,423471	1,423684	1,423897	1,424110
52	1,424323	1,424537	1,424750	1,424964	1,425178	1,425393	1,425607	1,425821	1,426036	1,426251
53	1,426466	1,426681	1,426896	1,4271 12	1,427328	1,427543	1,427759	1,-127975	1,428192	1,428408

Sakarosa g/100g	0,0	0,1	0,2	0,3	0.4	0,5	0,6	0,7	0.8	0.9
54	1,428625	1,428842	1,429059	1,429276	1,429493	1,429711	1,429928	1,430146	1,430364	1,430582
55	1,430800	1,431019	1,431238	1,431456	1,411675	1,431894	1,4321 14	1,432333	1,432553	1,432773
56	1,432993	1,433213	1,433433	1,433653	1,433874	1,434095	1,434316	1,414574	1,434758	1,434980
57	1,435201	1,435423	1,435645	1,435876	1,416089	1,4363 12	1,436535	1,436757	1,436980	1,437203
58	1,437427	1,437650	1,437874	1,438098	1,438322	1,438546	1,438770	1,438994	1,439219	1,439444
59	1,439669	1,439894	1,440119	1,440345	1,440571	1,440796	1,441022	1,441248	1,441475	1,441701
60	1,441928	1,442155	1,442328	1,442609	1,442836	1,443064	1,443292	1,443519	1,443747	1,443976
61	1,444204	1,444432	1,444661	1,444890	1,4451 19	1,445348	1,445578	1, 445807	1,446037	1,446267
62	1,446497	1,446727	1,446937	1,447188	1,447419	1,447650	1,447881	1,448112	1,448343	1,448575
63	1,448807	1,449039	1,449271	1,449503	1,449736	1,449968	1,450201	1,450434	1,450667	1,450900
64	1,451134	1,451367	1,451601	1,451835	1,452069	1,452304	1,452583	1,452773	1,453008	1,453243
65	1,453478	1,453713	1,453949	1,453184	1,454420	1,- 454656	1,454893	1,455129	1,455365	1,455602
66	1,455839	1,456076	1,456313	1,456551	1,456788	1,457026	1,457 264	1,457502	1,457740	1,457979
67	1,458217	1,458456	1,458695	1,458934	1,459174	1,459413	1,459635	1,459893	1,460133	1,460373
68	1,460613	1,460854	1,461094	1,461335	1,461576	1,461817	1,462059	1,462300	1,462542	1,462784
69	1,463026	1,463268	1,46351 1	1,463735	1,463996	1,464239	1,464482	1,464725	1,464969	1,465212
70	1,465456	1,465700	1,465944	1,466188	1,466433	1,466678	1,466922	1,467167	1,467413	1,467658
71	1,467903	1,468149	1,468395	1,468641	1,468887	1,46913- 4	1,469380	1,469627	1,46987- 4	1,470121
72	1,470368	1,470616	1,470863	1,471111	1,471359	1,471607	1,471855	1,472104	1,472352	1,472601
73	1,472850	1,473099	1,473394	1,473598	1,473848	1, 474098	1,474348	1,474598	1,474848	1,475098
74	1,475349	1,475600	1,475851	1,476103	1,476354	1,476606	1,476857	1,477109	1,477361	1,477614
75	1,477866	1,478119	1,478371	1,478624	1,478877	1,479131	1,479384	1,479638	1,479892	1,480146
76	1,480400	1,480654	1,480909	1,481163	1,481418	1,481673	1,481929	1,482184	1,482439	1,482695
77	1,482951	1,483207	1,483463	1,483720	1,483976	1,484233	1,484490	1,484747	1,485005	1,485262
78	1,485520	1,485777	1,486035	1,486293	1,486552	1,486810	1,487069	1,487328	1,487587	1,487846
79	1,488105	1,488365	1,488625	L488884	1,489148	1,489405	1,489665	1,489926	1,490186	1,490447
80	1,490708	1,490970	1,491231	1,491493	1,491754	1,492061	1,492278	1,492541	1,492803	1,493066
81	1,493328	1,493591	1,493855	1,494118	1,494381	1,494645	1,494909	1,495173	1,495347	1,495701

Sakarosa g/100g	0,0	0,1	0,2	0,3	0.4	0,5	0,6	0,7	0.8	0.9
82	1,495966	1,496230	1,496495	1,496760	1,497025	1,497291	1,497556	1,497822	1,498088	1,498354
83	1,498620	1,498887	1,499153	1,499420	1,499687	1,499954	1,500221	1,500488	1,500756	1,501024
84	1,501292	1,501560	1,501828	1,502096	1,502365	1,502634	1,502903	1,502172	1,503441	1,503711
85	1,503980									

Tabel 2. Koreksi hubungan antara faksi massa larutan sakarosa dengan indek refraksi pads 589 nm apabila suhu pengukuran tidak pada 20 °C

Suhu	Sakarosa Terukur (Fraksi masa)																	
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85
15	-0.29	-0.30	-0.32	-0.33	-0.34	-0.35	-0.36	-0.37	-0.37	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.38	-0.37	-0.37
16	-0.24	-0.25	-0.26	-0.27	-0.28	-0.28	-0.29	-0.30	-0.30	-0.30	-0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.30	-0.30	-0.30
17	-0.18	-0.19	-0.20	-0.20	-0.21	-0.21	-0.22	-0.22	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.23	-0.22
18	-0.12	-0.13	-0.13	-0.14	-0.14	-0.14	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15	-0.15
19	-0.06	-0.06	-0.07	-0.07	-0.07	-0.07	-0.07	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.08	-0.07
20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	+0.06	+0.07	+0.07	+0.07	+0.07	+0.07	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.08	+0.07
22	+0.13	+0.14	+0.14	+0.14	+0.15	+0.15	+0.15	+0.15	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.16	+0.15	+0.15	+0.15	+0.15
23	+0.20	+0.21	+0.21	+0.22	+0.22	+0.23	+0.23	+0.23	+0.23	+0.24	+0.24	+0.24	+0.24	+0.23	+0.23	+0.23	+0.23	+0.22
24	+0.27	+0.28	+0.29	+0.29	+0.30	+0.30	+0.31	+0.31	+0.31	+0.32	+0.32	+0.32	+0.32	+0.31	+0.31	+0.31	+0.30	+0.30
25	+0.34	+0.35	+0.36	+0.37	+0.38	+0.38	+0.39	+0.39	+0.40	+0.40	+0.40	+0.40	+0.40	+0.39	+0.39	+0.38	+0.38	+0.37
26	+0.42	+0.43	+0.44	+0.45	+0.46	+0.46	+0.47	+0.47	+0.48	+0.48	+0.48	+0.48	+0.48	+0.47	+0.47	+0.46	+0.46	+0.45
27	+0.50	+0.51	+0.52	+0.53	+0.54	+0.55	+0.55	+0.56	+0.56	+0.56	+0.56	+0.56	+0.56	+0.55	+0.55	+0.54	+0.53	+0.52
28	+0.58	+0.59	+0.60	+0.61	+0.62	+0.63	+0.64	+0.64	+0.64	+0.65	+0.65	+0.64	+0.64	+0.63	+0.63	+0.62	+0.61	+0.60
29	+0.66	+0.67	+0.68	+0.70	+0.71	+0.71	+0.72	+0.73	+0.73	+0.73	+0.73	+0.73	+0.72	+0.72	+0.71	+0.70	+0.69	+0.67
30	+0.74	+0.76	+0.77	+0.78	+0.79	+0.80	+0.81	+0.81	+0.82	+0.82	+0.81	+0.81	+0.80	+0.80	+0.79	+0.78	+0.76	+0.75
31	+0.83	+0.84	+0.85	+0.87	+0.88	+0.89	+0.89	+0.90	+0.90	+0.90	+0.90	+0.89	+0.89	+0.88	+0.87	+0.86	+0.84	+0.82
32	+0.92	+0.93	+0.94	+0.96	+0.97	+0.98	+0.98	+0.99	+0.99	+0.99	+0.99	+0.98	+0.97	+0.96	+0.95	+0.93	+0.92	+0.90
33	+1.01	+1.02	+1.03	+1.05	+1.06	+1.07	+1.07	+1.08	+1.08	+1.08	+1.07	+1.07	+1.06	+1.04	+1.03	+1.01	+1.00	+0.98
34	+1.10	+1.11	+1.13	+1.14	+1.15	+1.16	+1.16	+1.17	+1.17	+1.16	+1.16	+1.15	+1.14	+1.13	+1.11	+1.09	+1.07	+1.05
35	+1.19	+1.21	+1.22	+1.23	+1.24	+1.2S	+1.25	+1.26	+1.26	+1.25	+1.25	+1.24	+1.23	+1.21	+1.19	+1.17	+1.15	+1.13
36	+1.29	+1.30	+1.31	+1.33	+1.34	+1.34	+1.35	+1.35	+1.35	+1.34	+1.34	+1.33	+1.31	+1.29	+1.28	+1.25	+1.23	+1.20
37	+1.39	+1.40	+1.41	+1.42	+1.43	+1.44	+1.44	+1.44	+1.44	+1.43	+1.43	+1.41	+1.40	+1.38	+1.36	+1.33	+1.31	+1.28
38	+1.49	+1.50	+1.51	+1.52	+1.53	+1.53	+1.54	+1.54	+1.53	+1.53	+1.52	+1.S0	+1.48	+1.46	+1.44	+1.42	+1.39	+1.36
39	+1.59	+1.60	+1.61	+1.62	+1.63	+1.63	+1.63	+1.63	+1.63	+1.62	+1.61	+1.59	+1.57	+1.55	+1.52	+1.50	+1.47	+1.43
40	+1.69	+1.70	+1.71	+1.72	+1.73	+1.73	+1.73	+1.73	+1.72	+1.71	+1.70	+1.68	+1.66	+1.63	+1.61	+1.58	+1.54	+1.51

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum

   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan

   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat refraktometer yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

5. Tes Formatif

a. Jelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri!

b. Sebutkan dan jelaskan jenis-jenis alat refraktometer!

c. Sebutkan dan jelaskan bagian-bagian alat refraktometer!

d. Indeks bias merupakan salah satu dari beberapa sifat optis yang penting dari medium. Jelaskan penggunaan indek bias dalam bidang industri makanan dan minuman!

e. Jelaskan cara menguji konsentrasi gula dalam produk sari buah menggunakan refraktometer!

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1. Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.2
• Mendiskusikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan alat refraktometer</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>2. Pengetahuan
1. Prinsip pengujian secara refraktometri
2. Alat yang digunakan
3. Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan prinsip pengujian secara refraktometri!
2. Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian secara refraktometri!
3. Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri!</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>3. Keterampilan
Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara refraktometri</td><td>Tes Unjuk Kerja</td><td></td><td>4. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara menyiapkan alat dan bahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

KEGIATAN PEMBELAJARAN 2. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN DAN PERIKANAN SECARA POLARIMETRI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri ini membahas tentang prinsip pengujian secara polarimetri, mengenal alat polarimeter, dan tahapan pengujian secara polarimetri.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri.

2. Uraian Materi

Polarisasi adalah peristiwa perubahan arah getar gelombang cahaya yang acak menjadi satu arah getar. Polarimetri adalah suatu cara analisa yang didasarkan pada pengukuran sudut putaran (*optical rotation*) cahaya terpolarisir oleh senyawa yang transparan dan optis aktif apabila senyawa tersebut dilewati sinar monokromatis yang terpolarisir tersebut.

Senyawa optis aktif adalah senyawa yang dapat memutar bidang getar sinar terpolarisir. Zat yang optis ditandai dengan adanya atom karbon asimetris atau atom C kiral dalam senyawa organik, contoh : kuarsa (SiO_2), fruktosa. Sedangkan yang dimaksud dengan cahaya terpolarisasi adalah senyawa yang mempunyai satu arah getar dan arah getar tersebut tegak lurus terhadap arah rambatnya.

Cahaya monokromatik pada dasarnya mempunyai bidang getar yang banyak sekali. Bila dikhayalkan maka bidang getar tersebut akan tegak lurus pada bidang datar. Bidang getar yang banyak sekali ini secara mekanik dapat dipisahkan menjadi dua bidang getar yang saling tegak lurus.

Prinsip dasar polarimetris ini adalah pengukuran daya putar optis suatu zat yang menimbulkan terjadinya putaran bidang getar sinar terpolarisir. Pemutaran bidang getar sinar terpolarisir oleh senyawa optis aktif ada 2 macam, yaitu :

1. Dexro rotary (+), jika arah putarnya ke kanan atau sesuai putaran jarum jam.
2. Levo rotary (-), jika arah putarnya ke kiri atau berlawanan dengan putaran jarum jam.

Sinar mempunyai arah getar atau arah rambat kesegala arah dengan variasi warna dan panjang gelombang yang dikenal dengan sinar polikromatis. Untuk menghasilkan sinar monokromatis, maka digunakan suatu filter atau sumber sinar tertentu. Sinar monokromatis ini akan melewati suatu prisma yang terdiri dari suatu kristal yang mempunyai sifat seperti layar yang dapat menghalangi jalannya sinar, sehingga dihasilkan sinar yang hanya mempunyai satu arah bidang getar yang disebut sebagai sinar terpolarisasi.

Jika suatu sinar dilewatkan pada suatu larutan, larutan itu akan meneruskan sinar atau komponen gelombang yang arah getarnya searah dengan larutan dan menyerap sinar yang arahnya tegak lurus dengan arah ini. Di sini larutan digunakan sebagai suatu plat pemolarisasi atau polarisator. Akhirnya sinar yang keluar dari larutan adalah sinar yang terpolarisasi bidang.

Cahaya dalam keadaan terpolarisasi mempunyai ciri-ciri sebagai berikut :

- Gelombang ke semua arah dan tegak lurus arah rambatnya
- Terdiri dari banyak gelombang dan banyak arah getar

Rotasi spesifik disimbolkan dengan [α] sehingga dapat dirumuskan :

$$[\alpha] = \alpha / dc$$

Dimana :

α = besar sudut yang terpolarisasi oleh suatu larutan dengan konsentrasi c gram zat terlarut per mL larutan.

d = merupakan panjang lajur larutan (dm)

c = merupakan konsentrasi (gram/mL).

Karena panjang gelombang yang sering digunakan adalah 589,3 nm yaitu garis D lampu natrium dan suhu standar 20°C, maka $[\alpha]^T$ ditulis menjadi [α].

Kadar larutan dapat ditentukan dengan rumus :

$$\% = \frac{100 \, . \, \alpha}{(\alpha) \, .1}$$

Dengan menggunakan tabung yang sama maka konsentrasi atau kadar senyawa dapat ditentukan dengan jalan membuat kurva standar.

Hal-hal yang dapat mempengaruhi sudut putar suatu larutan adalah sebagai berikut :

1. Jenis zat.
   Masing – masing zat memberikan sudut putaran yang berbeda terhadap bidang getar sinar terpolarisir.
2. Panjang lajur larutan dan panjang tabung.
   Jika lajur larutan diperbesar maka putarannya juga makin besar.

3. Suhu.

   Makin tinggi suhu maka sudut putarannya makin kecil, hal ini disebabkan karena zat akan memuai dengan naiknya suhu sehingga zat yang berada dalam tabung akan berkurang.

4. Konsentrasi zat

   Konsentrasi sebanding dengan sudut putaran, jika konsentrasi dinaikkan maka putarannya semakin besar.

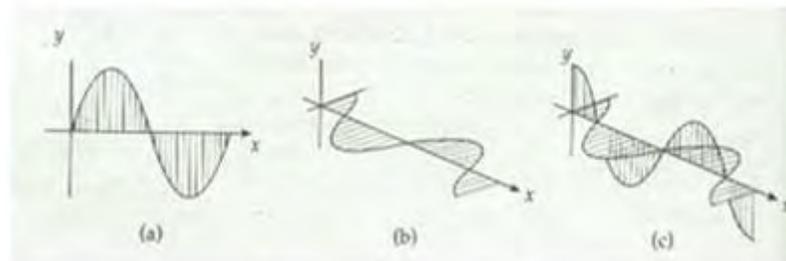
5. Jenis sinar (panjang gelombang)

   Pada panjang gelombang yang berbeda zat yang sama mempunyai nilai putaran yang berbeda.

6. Pelarut

   Zat yang sama mempunyai nilai putaran yang berbeda dalam pelarut yang berbeda.

   Contoh : Calciferol dalam kloroform $\alpha = +52{,}0^{o}$ sedangkan Calciferol dalam aseton $\alpha = +\ 82{,}6^{o}$

Fakta bahwa cahaya mengalami polarisasi menunjukkan bahwa cahaya merupakan gelombang transversal. Cahaya dapat terpolarisasi karena peristiwa pemantulan, peristiwa pembiasan dan pemantulan, peristiwa bias kembar, peristiwa absorbsi selektif, dan peristiwa hamburan. Berikut ini Gambar 8 Gelombang terpolarisasi dan takterpolarisasi.

Gambar 8. Gelombang terpolarisasi dan takterpolarisasi.

Keterangan :

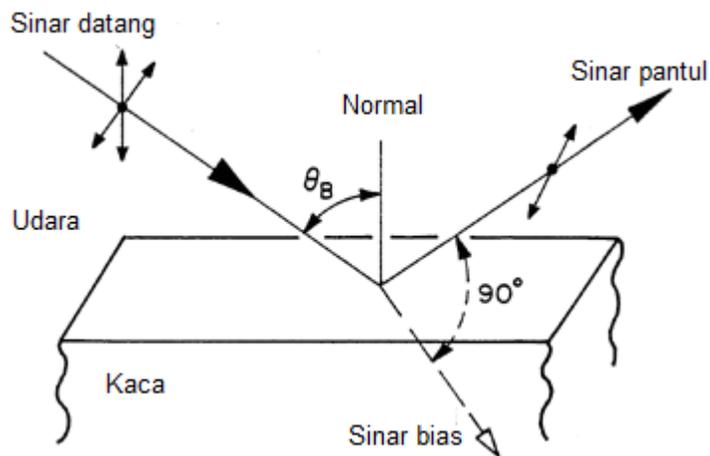
(a) Gelombang terpolarisasi linier pada arah vertical

(b) Gelombang terpolarisasi linier pada arah horizontal

(c) Gelombang takterpolarisasi

a. Jenis-jenis polarisasi

(1) Polarisasi karena pemantulan

Pemantulan akan menghasilkan cahaya terpolarisasi jika sinar pantul dan sinar biasnya membentuk sudut 90°. Arah getar sinar pantul yang terpolarisasi akan sejajar dengan bidang pantul, oleh karena itu sinar pantul tegak lurus sinar bias. Berikut ini Gambar 9 Polarisasi karena pemantulan.

Gambar 9. Polarisasi karena pemantulan

(2) Polarisasi karena pembiasan dan pemantulan

Cahaya terpolarisasi dapat diperoleh dari pembiasan dan pemantulan. Hasil percobaan para ahli fisika menunjukkan bahwa cahaya pemantulan terpolarisasi sempurna jika sudut datang θ1 mengakibatkan sinar bias dengan sinar pantul saling tegak lurus. Sudut datang seperti itu disebut sudut polarisasi atau sudut Brewster.

(3) Polarisasi karena pembiasan ganda (bias kembar)

Jika cahaya melalui kaca, maka cahaya lewat dengan kelajuan yang sama ke segala arah. Ini disebabkan kaca hanya memiliki satu indeks bias. Tetapi bahan-bahan kristal tertentu seperti kalsitt dan kuarsa memiliki dua indeks bias sehingga kelajuan cahaya tidak sama untuk segala arah. Jadi, cahaya yang melalui bahan ini akan mengalami pembiasan ganda.

Alat yang digunakan untuk mengukur besarnya putaran optik yang dihasilkan oleh suatu zat yang bersifat optis aktif yang terdapat dalam larutan adalah polarimeter.

b. Jenis-jenis polarimeter

(1) Spektropolarimeter

Merupakan satu jenis polarimeter yang dapat digunakan untuk mengukur aktifitas optik dan besarnya penyerapan. Pada alat ini mula-mula sinar berada dari lampu akan melalui suatu monokromator dan melewati suatu polarisator untuk menghasilkan sinar terpolarisir. Polarisator ini berhubungan langsung dengan bahan ajarator yang berguna untuk mengatur tingkat sinar yang terpolarisasi secara elektris yang dapat diamati pada servo amplifier. Kemudian sinar melewati sampel dan analisator sebelum mencapai tabung pengadaan sinar, dan dapat dilakukan dengan pengamatan pada indikator.

Gambar 10. Spektropolarimeter

http://t3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcS7-ZCZ0aW7kCL26CClVge2xAOS2ri3ya6BoGtdmrfqFpO3O6tU8w

(2) Optical rotatory dispersion (ORD)

Alat ini merupakan modifikasi dari spektropolarimeter, prinsipnya sama dengan spektropolarimeter, tetapi terdapat perbedaan yaitu pada ORD ini sinar diatur berdasarkan tingkat polarisasinya, yaitu pada frekuensi 12 Hz oleh motor driven yang menyebabkan polarisator bergerak – gerak dan membentuk sudut 1 atau 2 derajat atau lebih. Selain itu servoamplifiernya hanya dapat merespon pada frekuensi 12 Hz sehingga servomotor akan mengatur analisator secara kontinu dan servomotor juga memposisikan penderkorder untuk menghasilkan suatu grafik.

(3) Circular Dichroism Apparatus (CDA)

CDA ini merupakan modifikasi dari spektrofotometer konvensional yang digunakan untuk menentukan dua serapan atau absorban. Nilai polarisasi sekular ini dapat ditentukan dalam 2 langkah, yaitu yang pertama sinar harus mengalami polarisasi bidang dan kedua yaitu sinar terpolarisasi tersebut diubah menjadi komponen terpolarisasi sirkular kanan dan sirkular kiri. Untuk mengubah komponen menjadi

terpolarisasi sekular kanan dan kiri, dapat digunakan tiga tipe alat, yaitu the Fresnel rhomb, bahan ajarator pockets elektro-optik dan bahan ajarator tekanan photo-elastic.

(4) Saccarimeter

Saccharimeter adalah sebuah alat untuk mengukur konsentrasi larutan gula umumnya dicapai dengan menggunakan pengukuran indeks bias (refraktometer) atau sudut rotasi polarisasi gula optik aktif (polarimeter). Saccharimeters digunakan dalam industri pengolahan makanan, pembuatan bir, dan industri minuman beralkohol. Berikut ini Gambar 11 saccharimeter at the Sugar Museum (Berlin).

Gambar 11. Saccharimeter at the Sugar Museum (Berlin).

http://en.wikipedia.org/wiki/Saccharimeter

Mengenal Polarimeter

1. Buatlah kelompok bersama teman Anda!
2. Amati bagian-bagian polarimeter!
3. Diskusikan dan deskripsikan fungsi dari masing-masing bagian polarimeter!
4. Buatlah kesimpulan hasil diskusi kelompok!
5. Presentasikan hasil pengamatan Anda!

c. Komponen-komponen alat polarimeter

(1) Sumber Cahaya monokromatis

Yaitu sinar yang dapat memancarkan sinar monokromatis. Sumber cahaya yang digunakan biasanya adalah lampu D Natrium dengan panjang gelombang 589,3 nm. Selain itu juga dapat digunakan lampu uap raksa dengan panjang gelombang 546 nm.

(2) Lensa kolimator

Berfungsi mensejajarkan sinar dari lampu natrium atau dari sumber cahaya sebelum masuk ke polarisator.

(3) Polarisator dan Analisator.

Polarisator berfungsi untuk menghasilkan sinar terpolarisir. Sedangkan analisator berfungsi untuk menganalisis sudut yang terpolarisasi. Yang digunakan sebagai polarisator dan analisator adalah prisma nikol. Prisma setengah nikol merupakan alat untuk menghasilkan bayangan setengah yaitu bayangan terang gelap dan gelap terang.

(4) Skala lingkar.

Merupakan skala yang bentuknya melingkar dan pembacaan skalanya dilakukan jika telah didapatkan pengamatan tepat baur-baur.

(5) Wadah sampel (tabung polarimeter)

Wadah sampel ini berbentuk silinder yang terbuat dari kaca yang tertutup dikedua ujungnya berukuran besar dan yang lain berukuran kecil, biasanya mempunyai ukuran panjang 0,5 ; 1 ; 2 dm. Wadah sampel ini harus dibersihkan secara hati-hati dan tidak bileh ada gelembung udara yang terperangkap didalamnya.

(6) Detektor.

Pada polarimeter manual yang digunakan sebagai detektor adalah mata, sedangkan polarimeter lain dapat digunakan detektor fotoelektrik.

d. Prinsip Kerja Polarimeter

Prinsip kerja alat polarimeter adalah sebagai berikut: sinar yang datang dari sumber cahaya (misalnya lampu natrium) akan dilewatkan melalui prisma terpolarisasi (polarizer), kemudian diteruskan ke sel yang berisi larutan. Dan akhirnya menuju prisma terpolarisasi kedua (analizer). Polarizer tidak dapat diputar-putar sedangkan analizer dapat diatur atau di putar sesuai keinginan. Bila polarizer dan analizer saling tegak lurus (bidang polarisasinya juga tega lurus), maka sinar tidak ada yang ditransmisikan melalui medium diantara prisma polarisasi.

Jika zat yang bersifat optis aktif ditempatkan pada sel dan ditempatkan diantara prisma terpolarisasi maka sinar akan ditransmisikan. Putaran optik adalah sudut yang dilalui analizer ketika diputar dari posisi silang ke posisi baru yang intensitasnya semakin berkurang hingga nol. Untuk menentukan posisi yang tepat sulit dilakukan, karena itu digunakan apa yang disebut "setengah bayangan" (bayangan redup). Untuk mancapai kondisi ini, polarizer diatur sedemikian rupa, sehingga setengah bidang polarisasi membentuk sudut sekecil mungkin dengan setengah bidang polarisasi lainnya. Akibatnya memberikan pemadaman pada kedua sisi lain, sedangkan ditengah terang. Bila analyzer diputar terus setengah dari medan menjadi lebih terang dan yang lainnya redup.

Posisi putaran diantara terjadinya pemadaman dan terang tersebut, adalah posisi yang tepat dimana pada saat itu intensitas kedua medan sama. Jika zat yang bersifat optis aktif ditempatkan diantara polarizer dan analizer maka bidang polarisasi akan berputar sehingga posisi menjadi berubah. Untuk mengembalikan ke posisi semula, analizer dapat diputar sebesar sudut putaran dari sampel.

Sudut putar jenis ialah besarnya perputaran oleh 1,00 gram zat dalam 1,00 mL larutan yang barada dalam tabung dengan panjang jalan cahaya 1,00

dm, pada temperatur dan panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang yang lazim digunakan ialah 589,3 nm, dimana 1 nm = 10-9m. Sudut putar jenis untuk suatu senyawa (misalnya pada 25^{o}C).

e. Cara Penggunaan Polarimeter

Gambar 12. Zeiss polarimeter

Cara penggunaan berikut adalah cara penggunaan pada Zeiss Polarimeter, tetapi secara umum cara penggunaan polarimeter manapun adalah sama yaitu sebagai berikut:

1. Untuk memulai penggunaan polarimeter pastikan tombol power pada posisi on dan biarkan selama 5-10 menit agar lampu natriumnya siap digunakan.
2. Selalu mulai dengan menentukan keadaan nol (zero point) dengan mengisi tabung sampel dengan pelarut saja. Keadaan nol ini perlu untuk mengkoreksi pembacaan atau pengamatan rotasi optik. Tabung sampel harus dibersihkan sebelum digunakan agar larutan yang diisikan tidak terkontaminasi zat lain.
3. Pembacaan/pengamatan bergantung kepada tabung sampel yang berisi larutan/pelarut dengan penuh. Perhatikan saat menutup tabung sampel, harus dilakukan hati-hati agar di dalam tabung tidak terdapat gelembung udara.

4. Bila sebelum tabung diisi larutan didapat keadaan terang, maka setelah tabung diisi larutan putarlah analisator sampai didapat keadaan terang kembali. Sebaliknya bila awalnya keadaan gelap harus kembali kekeadaan gelap.
5. Catat besarnya rotasi optik yang dapat terbaca pada skala. Tetapi jangan hanya besar rotasi optiknya, arah rotasinya juga harus dicatat searah jarum jam atau berlawanan arah jarum jam.
6. Lakukan pembacaan berkali-kali sampai diperoleh nilai yang dapat dirata-ratakan.

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini! Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

Lembar Kerja:

1. Penentuan gula dengan polarimeter

Bahan yang diperlukan :

a. Larutan gula sampel dan standar glukosa, sukrosa dan D-fruktosa dan lai-lain.
b. Air suling bebas ion
c. NH_4OH pekat
d. Na_2CO_3
e. Indikator pp l %

Alat yang digunakan :

a. Polarimeter
b. Labu takar
c. Test plate
d. Vortex
e. Alat-alat dari kaca

Prosedur kerja :

a. Pembuatan larutan D-glukosa

- 10 g D-glukosa (tepat) dilarutkan dalam 85 ml air suling dalam labu takar 100 ml.

- Tambahkan tetes demi tetes larutan NH_4OH pekat atau bubuk Na_2CO_3.
- Penambahan diakhiri bila tetes larutan tersebut akan memberikan warna merah bila dibubukkan pada 2 tetes larutan indikator p.p. yang berada pada lempeng penguji (test plate)
- Akhirnya encerkan larutan tersebut dengan air suling sampai tanda, gojog.

b. Persiapan polarimeter

- Bersihkan tabung contoh dengan air suling (2 kali).
- Isilah penuh tabung contoh dengan air suling, tutuplah.
- Tempatkan tabung contoh pada polarimeter semestinya.
- Putarlah analisator sedemikian rupa sehingga tampak suatu bayangan lingkaran yang terang pada alat pengintainya
- Catatlah kedudukan analisator seperti terbaca pada lempeng pengukur berskala. Pembacaan skala dilakukan 3 kali, baik dari kanan maupun dari kiri.

  Hitunglah harga rata-ratanya. Kedudukan ini merupakan pembacaan nol untuk polarimeter yang bersangkutan.

c. Pengukuran derajat putaran D glukosa

- Cucilah tabung contoh dengan air suling (2 kali).
- Isilah tabung contoh dengan larutan D glukosa di atas.
- Teralah sudut putar terukur seperti di atas (3 kali).
- Hitunglah selisih antara skala pembacaan nol dengan skala pembacaan untuk larutan yang ditera.
- Selisihnya merupakan sudut putar terukur.
- Ukurlah suhu larutan dengan thermometer.
- Tentukan sudut putar spesifik larutan D-glukosa berdasarkan besarnya sudut putar terukur.

d. Pengukuran kadar larutan gula

- Cuci tabung contoh dengan air suling.
- Isi tabung contoh dengan air suling yang akan diukur kadarnya.
- Tempatkan tabung contoh pada polarimeter.
- Putarlah analisator sedemikian rupa sehingga tampak satu bayangan ling karan yang terang pada alat pengintainya.
- Catatlah kedudukan analisator seperti terbaca pada lempeng pengukur berskala. Kedudukan ini merupakan pembacaan nol untuk polarimeter yang bersangkutan.
- Cucilah tabung contoh dengan air suling.
- Isi tabung contoh dengan larutan gula yang akan diukur kadarnya.
- Tempatkan tabung contoh pada polarimeter.
- Putarlah analisator sedemikian rupa sehingga tambah satu bayangan lingkaran yang terang pada alat perputarannya.
- Hitunglah selisih antata pembacaan nol dengan skala pembacaan untuk larutan yang ditera, selisih ini merupakan sudut putar terukur.

Perhitungan:

$$\text{Kadar} = \frac{\text{rotasi terukur}}{\text{rotasi spesipik}} \text{ x kadar standar gula}$$

2. Menentukan konsentrasi larutan sukrosa dengan polarimeter

Alat dan Bahan

Alat:

a. Polarimeter 1 buah
b. Botol timbang 1 buah
c. Corong gelas 1 buah
d. Botol semprot 1 buah
e. Labu takar 100 mL 1 buah

Bahan:

a. Sukrosa
b. Air suling

f. Oven 1 buah

g. Desikator 1 buah

Prosedur Kerja

a. Panaskan sukrosa dalam oven dengan suhu 105°C

b. Dinginkan dalam desikator.

c. Buat larutan sukrosa dalam labu takar menggunakan masing-masing 5 gram, 10 gram, dan 15 gram sukrosa.

d. Isi tabung sampel dengan air suling sepenuh mungkin sampai tidak ada gelembung udara dalam tabung.

e. Putar prisma analisator sampai terlihat bidang terang. Lakukan pengukuran ini beberapa kali. Keadaan ini dicatat sebagai keadaan nol (zero point).

f. Ganti isi tabung dengan larutan sukrosa.

g. Putar analisator sampai terlihat bidang yang terang. Lakukan pengukuran ini beberapa kali. Rata-ratakan data hasil pengamatan.

h. Hitung rotasi optik larutan sukrosa dari perbedaan rata-rata rotasi larutan sukrosa dengan zero point.

i. Ganti isi tabung sampel dengan larutan sukrosa yagn tidak diketahui konsentrasinya.

j. Buat grafik antara rotasi optik dengan konsentrasi sukrosa.

k. Tentukan konsentrasi larutan sukrosa dengan memasukkan harga rotasi optiknya pada grafik yang telah dibuat.

l. Hitung konsentrasi larutan sukrosa dengan menghitung rotasi spesifiknya.

m. Hitung rotasi spesifik dari pengamatan rotasi optik setiap larutan menggunakan rumus $[\alpha]_{\lambda}^{T} = \frac{\alpha}{cl}$

n. Hitung rotasi spesifik rata-rata.

o. Gunakan nilai rotasi spesifik tersebut untuk menghitung konsentrasi larutan sukrosa unknown (tidak diketahui konsentrasinya).

3. Menentukan konsentrasi larutan fruktosa dengan polarimeter

Alat dan Bahan

Alat:

a.	Polarimeter	1 buah
b.	Botol timbang	1 buah
c.	Corong gelas	1 buah
d.	Botol semprot	1 buah
e.	Labu takar 100 mL	1 buah
f.	Oven	1 buah
g.	Desikator	1 buah

Bahan:

a. Fruktosa
b. Air suling

Prosedur Kerja

a. Panaskan fruktosa dalam oven.
b. Dinginkan dalam desikator.
c. Buat larutan fruktosa dalam labu takar menggunakan masing-masing 5 gram, 10 gram, dan 15 gram.
d. Isi tabung sampel dengan air suling sepenuh mungkin sampai tidak ada gelembung udara dalam tabung.
e. Putar prisma analisator sampai terlihat bidang terang. Lakukan pengukuran ini beberapa kali. Keadaan ini dicatat sebagai keadaan nol (zero point).
f. Ganti isi tabung dengan larutan furktosa.
g. Putar analisator sampai terlihat bidang yang terang. Lakukan pengukuran ini beberapa kali. Rata-ratakan data hasil pengamatan.
h. Tentukan rotasi spesifik dari tiga larutan fruktosa.
i. Hitung rotasi spesifik rata-ratanya.
j. Tentukan rotasi optik larutan fruktosa yang tidak diketahui konsentrasinya.
k. Hitung konsentrasi larutan fruktosa dengan menggunakan rumus rotasi spesifik.

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum
   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan
   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat polarimeter yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

5. Tes formatif

a. Jelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polimetri!
b. Sebutkan dan jelaskan jenis-jenis polarimeter!
c. Jelaskan prinsip kerja alat polarimeter!
d. Sebutkan dan jelaskan bagian-bagian alat polarimeter!
e. Jelaskan cara menguji konsentrasi larutan sukrosa menggunakan polarimeter!

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1. Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.2
• Mendiskusikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan alat polarimeter dalam pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>2. Pengetahuan
1. Prinsip pengujian secara polarimetri
2. Alat yang digunakan
3. Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan prinsip pengujian secara polarimetri!
2. Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian secara polarimetri!
3. Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri!</td></tr>
<tr><td>3. Keterampilan
Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara polarimetri</td><td>Tes Unjuk Kerja</td><td></td><td>1. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara menyiapkan alat dan bahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

KEGIATAN PEMBELAJARAN 3. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN DAN PERIKANAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri ini membahas tentang prinsip pengujian secara spektrofotometri , mengenal alat spektrofotometer, dan cara pengujian bahan secara spektrofotometri.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri.

2. Uraian Materi

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Cahaya yang dimaksud dapat berupa cahaya visibel, UV dan infra merah, sedangkan materi dapat berupa atom dan molekul namun yang lebih berperan adalah elektron valensi.

Sinar atau cahaya yang berasal dari sumber tertentu disebut juga sebagai radiasi elektromagnetik. Radiasi elektromagnetik yang dijumpai dalam kehidupan sehari-hari adalah cahaya matahari. Dalam interaksi materi dengan cahaya atau radiasi elektromagnetik, radiasi elektromagnetik kemungkinanan dihamburkan, diabsorbsi atau diteruskan sehingga dikenal adanya spektroskopi hamburan, spektroskopi absorbsi ataupun spektroskopi emisi.

Pengertian spektroskopi dan spektrofotometri pada dasarnya sama yaitu di dasarkan pada interaksi antara materi dengan radiasi elektromagnetik. Namun pengertian spektrofotometri lebih spesifik atau pengertiannya lebih sempit karena ditunjukan pada interaksi antara materi dengan cahaya (baik yang dilihat maupun tidak terlihat). Sedangkan pengertian spektroskopi lebih luas misalnya cahaya maupun medan magnet termasuk gelombang elektromagnetik.

Radiasi elektromagnetik memiliki sifat ganda yang disebut sebagai sifat dualistik cahaya yaitu:

a. Sebagai gelombang
b. Sebagai partikel-partikel energi yang disebut foton.

Karena sifat tersebut maka beberapa parameter perlu diketahui misalnya panjang gelombang, frekuensi dan energi tiap foton. Panjang gelombang (l) didefinisikan sebagai jarak antara dua puncak.

Hubungan dari ketiga parameter di atas dirumuskan oleh Planck yang dikenal dengan *persamaan Planck*. Hubungan antara panjang gelombang frekuensi dirumuskan sebagai

$$c = \lambda . v \text{ atau } \lambda = c/v \text{ atau } v = c/\lambda$$

Persamaan Planck: hubungan antara energi tiap foton dengan frekuensi

$$E = h . v$$

$$E = h . c/ \lambda$$

dimana

E = energi tiap foton

h = tetapan Planck (6,626 x 10^{-34} J.s),

v = frekuensi sinar

c = kecepatan cahaya (3 x 10^{8} m.s^{-1}

Dari rumus di atas dapat diketahui bahwa energi dan frekuensi suatu foton akan berbanding terbalik dengan panjang gelombang tetapi energi yang dimiliki suatu foton akan berbanding lurus dengan frekuensinya. Misalnya: energi yang dihasilkan cahaya UV lebih besar dari pada energi yang dihasilkan sinar tampak. Hal ini disebabkan UV memiliki panjang gelombang (λ) yang lebih pendek (100–400 nm) dibanding panjang gelombang yang dimiliki sinar tampak (400–800 nm).

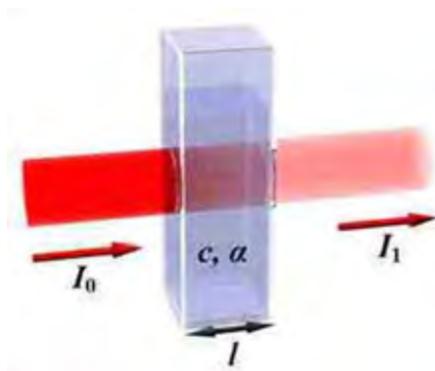
Proses Absorbsi Cahaya pada Spektrofotometri

Ketika cahaya dengan panjang berbagai panjang gelombang (cahaya polikromatis) mengenai suatu zat, maka cahaya dengan panjang gelombang tertentu saja yang akan diserap. Di dalam suatu molekul yang memegang peranan penting adalah elektron valensi dari setiap atom yang ada hingga terbentuk suatu materi. Elektron-elektron yang dimiliki oleh suatu molekul

dapat berpindah (eksitasi), berputar (rotasi) dan bergetar (vibrasi) jika dikenai suatu energi.

Jika zat menyerap cahaya tampak dan UV maka akan terjadi perpindahan elektron dari keadaan dasar menuju ke keadaan tereksitasi. Perpindahan elektron ini disebut transisi elektronik. Apabila cahaya yang diserap adalah cahaya inframerah maka elektron yang ada dalam atom atau elektron ikatan pada suatu molekul dapat hanya akan bergetar (vibrasi). Sedangkan gerakan berputar elektron terjadi pada energi yang lebih rendah lagi misalnya pada gelombang radio.

Atas dasar inilah spektrofotometri dirancang untuk mengukur konsentrasi zat yang ada dalam suatu sampel. Dimana zat yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Ketika cahaya mengenai sampel sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan.

Pada spektrofotometri, cahaya datang atau cahaya masuk atau cahaya yang mengenai permukaan zat dan cahaya setelah melewati zat tidak dapat diukur, yang dapat diukur adalah I_t/I_0 atau I_0/I_t (perbandingan cahaya datang dengan cahaya setelah melewati materi (sampel)). Proses penyerapan cahaya oleh suatu zat dapat digambarkan sebagai berikut:

Gambar 13. Proses penyerapan cahaya oleh zat dalam sel sampel. Cahaya sebelum melewati sel sampel lebih terang atau lebih banyak di banding cahaya setelah melewati sel sampel

Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A) sedangkan cahaya yang hamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum lambert-beer atau Hukum Beer, berbunyi:

"jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah dan sebagainya) yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan".

Berdasarkan hukum Lambert-Beer, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang hamburkan:

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad \text{atau} \quad \%T = \frac{I_t}{I_0} \times 100\%$$

dan absorbansi dinyatakan dengan rumus:

$$A = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_0}$$

dimana I_0 merupakan intensitas cahaya datang dan I_t atau I_1 adalah intensitas cahaya setelah melewati sampel.

Rumus yang diturunkan dari Hukum Beer dapat ditulis sebagai:

$$\mathbf{A = a \cdot b \cdot c \ \text{atau} \ A = \varepsilon \cdot b \cdot c}$$

dimana:

A = absorbansi

b atau terkadang digunakan l = tebal larutan (tebal kuvet diperhitungkan juga umumnya 1 cm)

c = konsentrasi larutan yang diukur

ε = tetapan absorptivitas molar (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam molar)

a = tetapan absorptivitas (jika konsentrasi larutan yang diukur dalam ppm).

Secara eksperimen hukum Lambert-beer akan terpenuhi apabila peralatan yang digunakan memenuhi kriteria-kriteria berikut:

a. Sinar yang masuk atau sinar yang mengenai sel sampel berupa sinar dengan dengan panjang gelombang tunggal (monokromatis).
b. Penyerapan sinar oleh suatu molekul yang ada di dalam larutan tidak dipengaruhi oleh molekul yang lain yang ada bersama dalam satu larutan.
c. Penyerapan terjadi di dalam volume larutan yang luas penampang (tebal kuvet) yang sama.
d. Penyerapan tidak menghasilkan pemancaran sinar pendafluor. Artinya larutan yang diukur harus benar-benar jernih agar tidak terjadi hamburan cahaya oleh partikel-partikel koloid atau suspensi yang ada di dalam larutan.
e. Konsentrasi analit rendah. Karena apabila konsentrasi tinggi akan menggangu kelinearan grafik absorbansi versus konsntrasi.

Berdasar sumber cahaya yang digunakan, spektrofotometri terdiri dari beberapa jenis, diantaranya adalah sebagai berikut:

a. Spektrofotometri Vis (Visible)
b. Spektrofotometri UV (Ultra Violet)
c. Spektrofotometri UV-Vis
d. Spektrofotometri IR (Infra Red)

Dari 4 jenis spektrofotometri ini (UV, Vis, UV-Vis dan IR) memiliki prinsip kerja yang sama yaitu “adanya interaksi antara materi dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu”. Perbedaannya terletak pada panjang gelombang yang digunakan.

a. Spektrofotometri Visible (Spektro Vis)

Spektrofotometri visible disebut juga spektrofotometri sinar tampak. Yang dimaksud sinar tampak adalah sinar yang dapat dilihat oleh mata manusia. Panjang gelombang sinar tampak adalah 380 sampai 750 nm. Sehingga semua sinar yang dapat dilihat oleh kita, entah itu putih, merah, biru, hijau, apapun, selama ia dapat dilihat oleh mata, maka sinar tersebut termasuk ke dalam sinar tampak (visible).

Gambar 14. LIVI 300 Visible Spectrophotometer

Cahaya yang diserap oleh suatu zat berbeda dengan cahaya yang ditangkap oleh mata manusia. Cahaya yang tampak atau cahaya yang dilihat dalam kehidupan sehari-hari disebut warna komplementer. Misalnya suatu zat akan berwarna orange bila menyerap warna biru dari spektrum sinar tampak dan suatu zat akan berwarna hitam bila menyerap semua warna yang terdapat pada spektrum sinar tampak. Untuk lebih jelasnya perhatikan tabel 3.1. berikut.

Tabel 3. Panjang gelombang, warna yang diserap dan warna komplementer

Panjang gelombang (nm)	Warna warna yang diserap	Warna komplementer (warna yang terlihat)
400 – 435	Ungu	Hijau kekuningan
435 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau kebiruan	Merah

500 – 560	Hijau	Ungu kemerahan
560 – 580	Hijau kekuningan	Ungu
580 – 595	Kuning	Biru
595 – 610	Jingga	Biru kehijauan
610 – 800	Merah	Hijau kebiruan

Sumber sinar tampak yang umumnya dipakai pada spektro visible adalah lampu *Tungsten*. Tungsten yang dikenal juga dengan nama *Wolfram* merupakan unsur kimia dengan simbol W dan no atom 74. Tungsten mempunyai titik didih yang tertinggi (3422 ºC) dibanding logam lainnya. karena sifat inilah maka ia digunakan sebagai sumber lampu.

Sampel yang dapat dianalisa dengan metode ini hanya yang memiliki warna. Hal ini menjadi kelemahan tersendiri dari metode spektrofotometri visible. Oleh karena itu, untuk yang tidak memiliki warna harus terlebih dulu dibuat berwarna dengan menggunakan reagent spesifik yang akan menghasilkan senyawa berwarna. Reagent yang digunakan harus betul-betul spesifik hanya bereaksi dengan analat yang akan dianalisa. Selain itu juga produk senyawa berwarna yang dihasilkan harus benar-benar stabil.

Salah satu contohnya adalah pada analisa kadar protein terlarut (*soluble protein*). Protein terlarut dalam larutan tidak memiliki warna. Oleh karena itu, larutan ini harus dibuat berwarna agar dapat dianalisa. Reagent yang biasa digunakan adalah reagent Folin. Saat protein terlarut direaksikan dengan Folin dalam suasana sedikit basa, ikatan peptide pada protein akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna biru yang dapat dideteksi pada panjang gelombang sekitar 578 nm. Semakin tinggi intensitas warna biru menandakan banyaknya senyawa kompleks yang terbentuk yang berarti semakin besar konsentrasi protein terlarut dalam sampel.

b. Spektrofotometri UV (ultraviolet)

Berbeda dengan spektrofotometri visible, pada spektrofotometri UV berdasarkan interaksi sampel dengan sinar UV. Sinar UV memiliki panjang gelombang 190-380 nm. Sebagai sumber sinar dapat digunakan lampu deuterium. Deuterium disebut juga heavy hidrogen, yang merupakan isotop hidrogen yang stabil yang terdapat berlimpah di laut dan daratan. Inti atom deuterium mempunyai satu proton dan satu neutron, sementara hidrogen hanya memiliki satu proton dan tidak memiliki neutron. Nama deuterium diambil dari bahasa Yunani, *deuteros*, yang berarti 'dua', mengacu pada intinya yang memiliki dua pertikel.

Gambar 15. Shimadzu(R) UV-1800(R) Spectrophotometer

https://www.spectrumchemical.com/OA_MEDIA/H_309141.gif

Karena sinar UV tidak dapat dideteksi oleh mata kita, maka senyawa yang dapat menyerap sinar ini terkadang merupakan senyawa yang tidak memiliki warna. Bening dan transparan. Oleh karena itu, sampel tidak berwarna tidak perlu dibuat berwarna dengan penambahan reagent tertentu. Bahkan sampel dapat langsung dianalisa meskipun tanpa preparasi. Namun perlu diingat, sampel keruh tetap harus dibuat jernih dengan filtrasi atau centrifugasi. Prinsip dasar pada spektrofotometri adalah sampel harus jernih dan larut sempurna. Tidak ada partikel koloid apalagi suspensi.

Sebagai contoh pada analisa protein terlarut (soluble protein). Jika menggunakan spektrofotometri visible, sampel terlebih dulu dibuat berwarna dengan reagent Folin, maka bila menggunakan spektrofotometri UV, sampel dapat langsung dianalisa. Ikatan peptide pada protein terlarut akan menyerap sinar UV pada panjang gelombang sekitar 280 nm. Sehingga semakin banyak sinar yang diserap sampel (Absorbansi tinggi), maka konsentrasi protein terlarut semakin besar.

Spektrofotometri UV memang lebih simple dan mudah dibanding spektrofotometri visible, terutama pada bagian preparasi sampel. Namun harus hati-hati juga, karena banyak kemungkinan terjadi interferensi dari senyawa lain selain analat yang juga menyerap pada panjang gelombang UV. Hal ini berpotensi menimbulkan bias pada hasil analisa.

c. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri ini merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan Visible. Menggunakan dua buah sumber cahaya berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya visible. Meskipun untuk alat yang lebih canggih sudah menggunakan hanya satu sumber sinar sebagai sumber UV dan Vis, yaitu photodiode yang dilengkapi dengan monokromator.

Gambar 16. Spektrofotometri UV-Vis

http://image.made-in-china.com/2f1j00yMEQZSdKyezv/UV-Visible-Spectrophotometer.jpg

Spektrofotometri UV Visible adalah pengukuran dan interpretasi radiasi elektromagnetik (cahaya) yang diabsorpsi atau diemisikan oleh molekul pada panjang gelombang 200-800 nanometer. Dimana sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-800 nm.

Sinar ultraviolet dan sinar tampak memberikan energi yang cukup untuk terjadinya transisi elektronik. Dengan demikian, spektra uv-visible disebut spektra elektronik. Keadaan energi yang paling rendah disebut dengan keadaan dasar (ground state). Transisi-transisi elektronik akan meningkatkan energi molekuler dari keadaan dasar ke satu atau lebih tingkat energi tereksitasi.

Jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik ini akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi.

Jika suatu radiasi elektromagnetik menembus suatu larutan yang berada dalam suatu bejana gelas, maka sebagian cahaya akan diserap oleh larutan dan selebihnya akan dilewatkan. Bagian yang diserap akan diukur dengan besaran asorban (A) atau ekstingsi yang diberi lambang ε, dan yang diteruskan disebut tranmisi, hubungan antara A dan T dapat dirumuskan sebagai berikut:

$$A = -\text{Log } T$$

Senyawa yang dapat menyerap cahaya tersebut adalah senyawa yang memiliki pasangan elektron yang tidak berpasangan atau gugus kromoform.

Aspek Kualitatitf dan Kuantitatif Spektrofotometri UV-Visible

Spektra UV-Vis dapat digunakan untuk informasi kualitatif dan sekaligus dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

1) Aspek Kualitatif

   Data spektra Uv-Vis secara tersendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif obat atau metabolitnya. Akan tetapi jika digabung dengan cara lain seperti spektroskopi infra merah, resonansi magnet inti, dan spektroskopi massa, maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi/analisis kualitatif suatu senyawa tersebut. Data yang diperoleh dari spektroskopi Uv dan Vis adalah panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut. Dimana data-data tersebut dapat dibandingkan dengan data yang telah dipublikasikan (published data). Dari spektra yang diperoleh, dapat dilihat, misalnya:

   - Serapan (absorbansi) berubah atau tidak karena perubahan pH. Jika berubah, bagaimana perubahannya apakah batokromik ke hipsokromik dan sebaliknya atau dari hipokromik ke hiperkromik, dan sebagainya.
   - Obat-obat netral misalnya kafein, kloramfenikol atau obat-obat yang berisi ausokrom yang tidak terkonjugasi seperti amfetamin. Siklizin dan pensiklidin.

2) Aspek kuantitatif

   Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang perdetik. Serapan

dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Intensitas juga mengalami penurunan dengan adanya penghmburan dan pemantulan cahaya, akan tetapi penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan.

Secara matematis , persamaan yang digunakan dalam analisis kuantitatif spektrofotometri uv-vis adalah:

A= abc atau A = ε. b. c

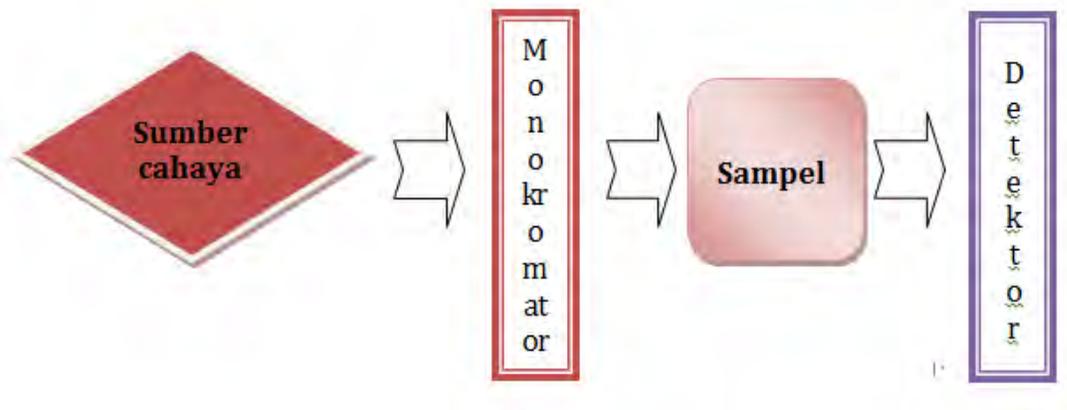
Dimana : A = absorban

a = absorptivitas

b = tebal kuvet

c = Konsentrasi

Persamaan ini dikenal dengan hukum Lambert-Beer. Kuantitas spektroskopi yang diukur biasanya adalah transmitans (T)= I/Io, dan Absorbansi (A), yang mana A= log 1/T. beberapa batasan dalam hukum Lambert_beer antara lain:

- Sinar yang digunakan dianggap monokromatis
- Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama
- Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergangtung terhadap yang lain dalam larutan tersebut
- Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi
- Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan

Gambar 17. Bagan alat spektrofometri Uv-Visible (Sumber: watson,1999)

a) Sumber cahaya

Sumber-sumber lampu: lampu deuterium digunakan untuk daerah Uv pada panjang gelombang 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible (350-900 nm).

b) Monokromator

Digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih celah (slit). Monokromator berputar sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.

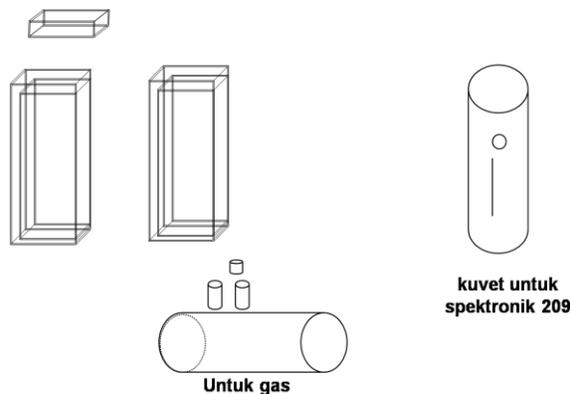
Optik-optik

Dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sinar melewati 2 kompartemen dan sebagaimana dalam spektrofotometer berkas ganda (double beam), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk

mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Yang paling sering digunakan sebagai blanko dalam spektrofotometri adalah semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi.

c) Sampel Kompartemen

Sel atau kuvet adalah wadah berbentuk kotak empat persegi panjang atau silinder untuk menyimpan larutan yang diukur. Sel harus transparan dan dapat melewatkan sekurang-kurangnya 70% radiasi yang mengenainya serta tidak boleh menyerap radiasi yang digunakan dalam pengukuran. Kuvet untuk blanko dan kuvet untuk sampel harus "*matched*"

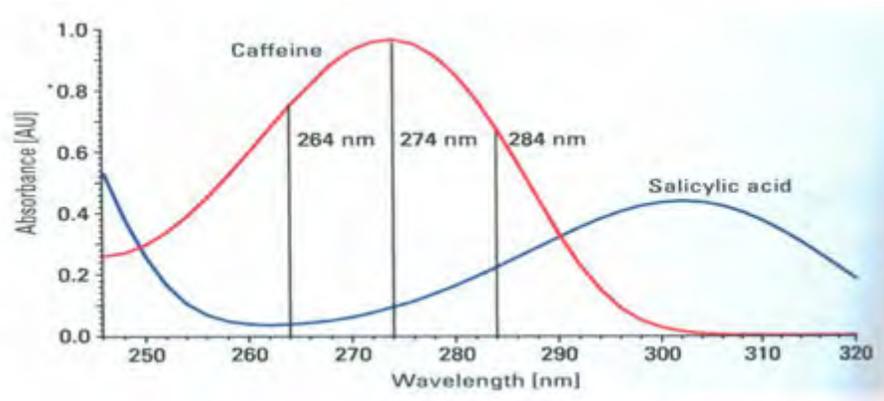
Kuvet kaca digunakan untuk pengukuran di daerah sinar tampak (380 – 1100 nm) karena bahan dari kaca mengabsorpsi radiasi UV. Kuvet silika dapat digunakan untuk pengukuran di daerah ultra violet dan sinar tampak (190 – 1100 nm). Kuvet yang digunakan mempunyai ketebalan tertentu yaitu 1, 2, 5, dan 10 cm. Yang biasa digunakan adalah kuvet berukuran 1 cm dengan kapasitas 4 ml.

Gambar 18. Kuvet Spektrofotometer UV-VIS

d) Detektor

Detektor berfungsi mengukur radiasi yang ditransmisikan oleh sampel dan mengukur intensitas radiasi tersebut. Radiasi diubah

menjadi energi listrik oleh sel tabung foto, fotovoltaik atau silicon fotodida.

e) Rekorder

Signal listrik yang keluar dari detektor diterima pada sirkuit potensiometer yang dapat langsung mengukur transmitans atau absorban. Rekorder dapat mengggambarkan secara otomatis kurva absorpsi pada kertas rekorder. Pada spektrofotometer yang diukur adalah transmitans yaitu ratio antara intensitas radiasi yang ditransmisikan sampel terhadap intensitas radiasi yang ditransmisikan sel yang berisi pelarut murni.

Gambar 19. Contoh Spektra Uv-Visible

Untuk sistem spektrofotometri, UV-Vis paling banyak tersedia dan paling populer digunakan. Kemudahan metode ini adalah dapat digunakan baik untuk sampel berwarna juga untuk sampel tak berwarna.

d. Spektrofotometri IR (Infra Red)

Dari namanya sudah bisa dimengerti bahwa spektrofotometri ini berdasar pada penyerapan panjang gelombang infra merah. Cahaya infra merah terbagi menjadi infra merah dekat, pertengahan, dan jauh. Infra merah

pada spektrofotometri adalah infra merah jauh dan pertengahan yang mempunyai panjang gelombang 2.5-1000 μm.

Pada spektro IR meskipun bisa digunakan untuk analisa kuantitatif, namun biasanya lebih kepada analisa kualitatif. Umumnya spektro IR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa, terutama senyawa organik. Setiap serapan pada panjang gelombang tertentu menggambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik.

Hasil analisa biasanya berupa signal kromatogram hubungan intensitas IR terhadap panjang gelombang. Untuk identifikasi, signal sampel akan dibandingkan dengan signal standard. Perlu juga diketahui bahwa sampel untuk metode ini harus dalam bentuk murni. Karena bila tidak, gangguan dari gugus fungsi kontaminan akan mengganggu signal kurva yang diperoleh.

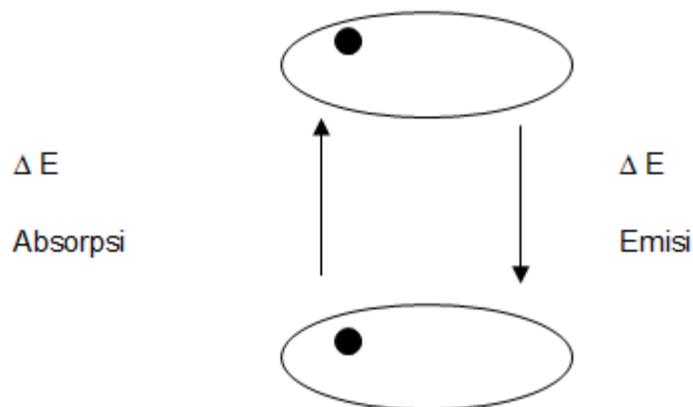
Terdapat juga satu jenis spektrofotometri IR lainnya yang berdasar pada penyerapan sinar IR pendek. Spektrofotometri ini di sebut Near Infrared Spectropgotometry (NIR). Aplikasi NIR banyak digunakan pada industri pakan dan pangan guna analisa bahan baku yang bersifat rutin dan cepat.

e. Spektrofotometri Serapan Atom (AAS)

Disamping Spektrofotometer UV-Vis, berkembang pula Spektrofotometer Serapan atom (AAS) untuk penentuan unsur-unsur logam dan metaloid yang berdasarkan pada penyerapan (absorpsi) radiasi oleh atom-atom bebas unsur tersebut. Sekitar 67 unsur telah dapat ditentukan dengan cara AAS. Banyak penentuan unsur-unsur logam yang sebelumnya dilakukan dengan metoda polarografi, kemudian dengan metoda spektrofotometri UV-VIS, sekarang banyak diganti dengan metoda AAS.

Spektrofotometri serapan atom (AAS) adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada proses penyerapan energi radiasi oleh atom-atom yang berada pada tingkat energi dasar (*ground state*). Penyerapan tersebut menyebabkan tereksitasinya elektron dalam kulit atom ke tingkat energi yang lebih tinggi. Keadaan ini bersifat labil, elektron akan kembali ke tingkat energi dasar sambil mengeluarkan energi yang berbentuk radiasi.

Dalam AAS, atom bebas berinteraksi dengan berbagai bentuk energi seperti energi panas, energi elektromagnetik, energi kimia dan energi listrik. Interaksi ini menimbulkan proses-proses dalam atom bebas yang menghasilkan absorpsi dan emisi (pancaran) radiasi dan panas. Radiasi yang dipancarkan bersifat khas karena mempunyai panjang gelombang yang karakteristik untuk setiap atom bebas.

Adanya absorpsi atau emisi radiasi disebabkan adanya transisi elektronik yaitu perpindahan elektron dalam atom, dari tingkat energi yang satu ke tingkat energi yang lain. Absorpsi radiasi terjadi apabila ada elektron yang mengabsorpsi energi radiasi sehingga berpindah ke tingkat energi yang lebih tinggi. Emisi terjadi apabila ada elektron yang berpindah ke tingkat energi yang lebih rendah sehingga terjadi pelepasan energi dalam bentuk radiasi.

Gambar 20. Proses absorpsi dan emisi suatu atom

Panjang gelombang dari radiasi yang menyebabkan eksitasi ke tingkat eksitasi tingkat-1 disebut panjang gelombang radiasi resonansi. Radiasi ini berasal dari unsur logam/metaloid.

Radiasi resonansi dari unsur X hanya dapat diabsorpsi oleh atom X, sebaliknya atom X tidak dapat mengabsorpsi radiasi resonansi unsur Y. Tak ada satupun unsur dalam susunan berkala yang radiasi resonansinya menyamai unsur lain. Hal inilah yang menyebabkan metode AAS sangat spesifik dan hampir bebas gangguan karena frekuensi radiasi yang diserap adalah karakteristik untuk setiap unsur. Gangguan hanya akan terjadi apabila panjang radiasi resonansi dari dua unsur yang sangat berdekatan satu sama lain.

Atomisasi

Ada tiga cara atomisasi (pembentukan atom) dalam AAS :

1) Atomisasi dengan nyala

Suatu senyawa logam yang dipanaskan akan membentuk atom logam pada suhu ± 1700 ^{o}C atau lebih. Sampel yang berbentuk cairan akan dilakukan atomisasi dengan cara memasukan cairan tersebut ke dalam nyala campuran gas bakar. Tingginya suhu nyala yang diperlukan untuk atomisasi setiap unsur berbeda.

Tabel 4. Suhu Nyala pada Proses Atomisasi

Campuran Gas	Unsur yang Diatomisasikan	Suhu Nyala (±ºC)
Udara : propana	Logam-logam alkali	1900
Udara : C_2H_2	Gol I, IA, IB, IIB, VIII, Mg, Ca, Sr, Cr, Mn, Tc, Pb, Bi, Mo, Ga, In, Sb, Te, Zn, Cd dan Sn	2200
N_2O : H_2	As, Se, Sn, Sb	2250
Udara : H_2	As, Se, Sn, Zn, Pb, Cd	1550
N_2O : C_2H_2	Gol. Lantanida, Aktinida, IVA, IIIB, IVB, VB, Mo, W, Re, Os, Ba, Sr, Ca, Be, B, Al, Ti, Si,Ge	2955

Beberapa unsur dapat ditentukan dengan nyala dari campuran gas yang berbeda tetapi penggunaan bahan bakar dan oksidan yang berbeda akan memberikan sensitivitas yang berbeda pula.

Syarat-syarat gas yang dapat digunakan dalam atomisasi dengan nyala:

a) Campuran gas memberikan suhu nyala yang sesuai untuk atomisasi unsur yang akan dianalisa
b) Tidak berbahaya misalnya tidak mudah menimbulkan ledakan.
c) Gas cukup aman, tidak beracun dan mudah dikendalikan
d) Gas cukup murni dan bersih (UHP)

Campuran gas yang paling umum digunakan adalah Udara : C_2H_2 (suhu nyala 1900 – 2000 ^oC), N_2O : C_2H_2 (suhu nyala 2700 – 3000 ^oC), Udara : propana (suhu nyala 1700 – 1900 ^oC)

Banyaknya atom dalam nyala tergantung pada suhu nyala. Suhu nyala tergantung perbandingan gas bahan bakar dan oksidan.

Hal-hal yang harus diperhatikan pada atomisasi dengan nyala :

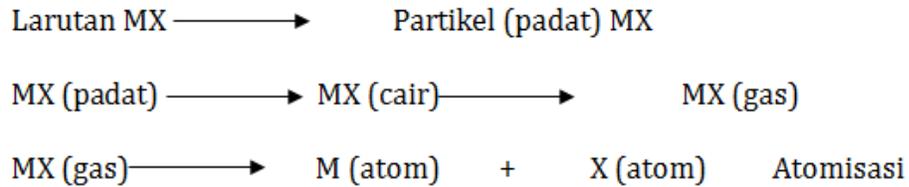
a) Standar dan sampel harus dipersiapkan dalam bentuk larutan dan cukup stabil. Dianjurkan dalam larutan dengan keasaman yang rendah untuk mencegah korosi.
b) Atomisasi dilakukan dengan nyala dari campuran gas yang sesuai dengan unsur yang dianalisa.
c) Persyaratan bila menggunakan pelarut organik :
    - Tidak mudah meledak bila kena panas
    - Mempunyai berat jenis > 0,7 g/mL
    - Mempunyai titik didih > 100 ^oC
    - Mempunyai titik nyala yang tinggi
    - Tidak menggunakan pelarut hidrokarbon

Pembuatan atom bebas dengan menggunakan nyala (*Flame AAS*)

Contoh: Suatu larutan MX, setelah dinebulisasi ke dalam spray chamber sehingga terbentuk aerosol kemudian dibawa ke dalam nyala oleh campuran gas oksidan dan bahan bakar akan m engalami proses atomisasi

Larutan MX ⟶ Partikel (padat) MX

MX (padat) ⟶ MX (cair) ⟶ MX (gas)

MX (gas) ⟶ M (atom) + X (atom) Atomisasi

2) Atomisasi tanpa nyala

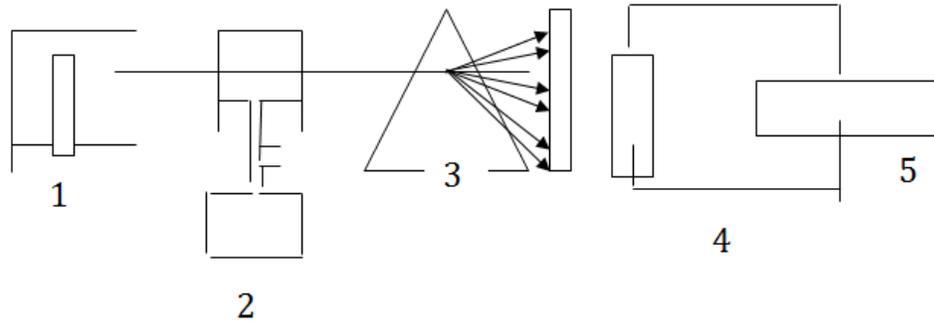
Atomisasi tanpa nyala dilakukan dengan mengalirkan energi listrik pada batang karbon (CRA – *Carbon Rod Atomizer*) atau tabung karbon (GTA – *Graphite Tube Atomizer*) yang mempunyai 2 elektroda.

Sampel dimasukan ke dalam CRA atau GTA. Arus listrik dialirkan sehingga batang atau tabung menjadi panas (suhu naik menjadi tinggi) dan unsur yang dianalisa akan teratomisasi. Suhu dapat diatur hingga 3000 ^{o}C. pemanasan larutan sampel melalui tiga tahapan yaitu :

- Tahap pengeringan (*drying*) untuk menguapkan pelarut
- Pengabuan (*ashing*), suhu furnace dinaikkan bertahap sampai terjadi dekomposisi dan penguapan senyawa organik yang ada dalam sampel sehingga diperoleh garam atau oksida logam
- Pengatoman (*atomization*)

3) Atomisasi dengan pembentukan senyawa hidrida

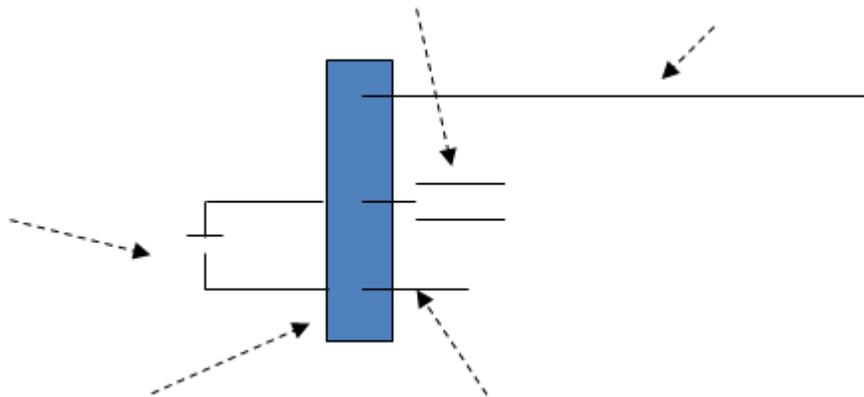
Atomisasi dengan pembentukan senyawa hidrida dilakukan untuk unsur As, Se, Sb yang mudah terurai apabila dipanaskan pada suhu lebih dari 800 ^{o}C sehingga atomisasi dilakukan dengan membentuk senyawa hibrida berbentuk gas atau yang lebih terurai menjadi atom-atomnya melalui reaksi reduksi oleh $SnCl_2$ atau $NaBH_4$, contohnya merkuri (Hg).

Instrumentasi AAS

Gambar 21. Skema peralatan AAS

Keterangan:

1) Sumber radiasi berupa lampu katoda berongga
2) Atomizer yang terdiri dari pengabut dan pembakar
3) Monokromator
4) Detektor
5) Rekorder

1) Sumber radiasi resonansi

Sumber radiasi resonansi yang digunakan adalah lampu katoda berongga (Hollow Cathode Lamp) atau Electrodeless Discharge Tube (EDT). Elektroda lampu katoda berongga biasanya terdiri dari wolfram dan katoda berongga dilapisi dengan unsur murni atau campuran dari unsur murni yang dikehendaki. Tanung lampu dan jendela (window) terbuat dari silika atau kuarsa, diisi dengan gas pengisi yang dapat menghasilkan proses ionisasi. Gas pengisi yang biasanya digunakan ialah Ne, Ar atau He.

Gambar 22. Lampu Katoda Berongga (Hallow Cathode Lamp)

Pemancaran radiasi resonansi terjadi bila kedua elektroda diberi tegangan, arus listrik yang terjadi menimbulkan ionisasi gas-gas pengisi. Ion-ion gas yang bermuatan positif ini menembaki atom-atom yang terdapat pada katoda yang menyebabkan tereksitasinya atom-atom tersebut. Atom-atom yang tereksitasi ini bersifat tidak stabil dan akan kembali ke tingkat dasar dengan melepaskan energi eksitasinya dalam bentuk radiasi. Radiasi ini yang dilewatkan melalui atom yang berada dalam nyala.

2) Atomizer

Atomizer terdiri atas Nebulizer (sistem pengabut), spray chamber dan burner (sistem pembakar)

- Nebulizer berfungsi untuk mengubah larutan menjadi aerosol (butir-butir kabut dengan ukuran partikel 15 – 20 µm) dengan cara menarik larutan melalui kapiler (akibat efek dari aliran udara) dengan pengisapan gas bahan bakar dan oksidan, disemprotkan ke ruang pengabut. Partikel-partikel kabut yang halus kemudian

bersama-sama aliran campuran gas bahan bakar, masuk ke dalam nyala, sedangkan titik kabut yang besar dialirkan melalui saluran pembuangan.

- Spray chamber berfungsi untuk membuat campuran yang homogen antara gas oksidan, bahan bakar dan aerosol yang mengandung contoh sebelum memasuki burner.
- Burner merupakan sistem tepat terjadi atomisasi yaitu pengubahan kabut/uap garam unsur yang akan dianalisis menjadi atom-atom normal dalam nyala.

3) Monokromator

Setelah radiasi resonansi dari lampu katoda berongga melalui populasi atom di dalam nyala, energi radiasi ini sebagian diserap dan sebagian lagi diteruskan. Fraksi radiasi yang diteruskan dipisahkan dari radiasi lainnya. Pemilihan atau pemisahan radiasi tersebut dilakukan oleh monokromator.

Monokromator berfungsi untuk memisahkan radiasi resonansi yang telah mengalami absorpsi tersebut dari radiasi-radiasi lainnya. Radiasi lainnya berasal dari lampu katoda berongga, gas pengisi lampu katoda berongga atau logam pengotor dalam lampu katoda berongga. Monokromator terdiri atas sistem optik yaitu celah, cermin dan kisi.

4) Detektor

Detektor berfungsi mengukur radiasi yang ditransmisikan oleh sampel dan mengukur intensitas radiasi tersebut dalam bentuk energi listrik.

5) Rekorder

Sinyal listrik yang keluar dari detektor diterima oleh piranti yang dapat menggambarkan secara otomatis kurva absorpsi.

Analisis dengan Spektrofotometer Serapan Atom (AAS)

1) Keamanan lingkungan kerja

   Sebelum melakukan pengujian contoh menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS) maka kita harus memahami dulu tentang keamanan lingkungan kerja selama melakukan pengujian. Pedoman keamanan lingkungan kerja menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS) diantaranya adalah :

   a) Pastikan laboratorium / tempat alat AAS tersebut berada berventilasi dengan baik dan dilengkapi dengan sistem pembuangan gas yang memadai yang sambungan-sambungannya pada sisi pembuangan bersifat kedap udara, karena beberapa pelarut organik, terutama yang mengandung klor, menghasilkan produk toksik dalam nyala.
   b) Silinder gas haruslah diikat dengan aman dalam suatu kamar yang ventilasinya memadai, cukup jauh dari dari panas apapun maupun sumber penyalaan. Silinder gas ditandai dengan jelas sehingga isinya dapat segera dikenali.
   c) Bila alat AAS dimatikan, tutuplah katup silinder gas bakar dan buang gas yang tersisa dalam saluran ke udara lewat sistem pembuangan.
   d) Sistem pipa yang menyalurkan gas dari silider gas dipasang dengan kuat
   e) Lakukan pemeriksaan berkala akan adanya kebocoran dengan menggunakan larutan sabun pada sambungan dan segel.
   f) Jangan pernah mengalirkan gas asetilen pada tekanan lebih dari 15 psi, karena pada tekanan tinggi asetilen dapat meledak dengan tiba-tiba.
   g) Hindari kontak antara gas asetilen dengan perak, merkuri atau klor.

h) Hati-hati apabila menggunakan pelarut organik atsiri yang dapat terbakar pada penghembusan ke dalam nyala, sebaiknya gunakan wadah yang tutupnya pas dan berlubang kecil untuk kapiler larutan contoh.
i) Jangan pernah memandang langsung nyala atau sinar dari lampu katode berongga tanpa menggunakan alat pelindung mata (kaca mata)
j) Jangan pernah meninggalkan nyala tanpa dijaga.

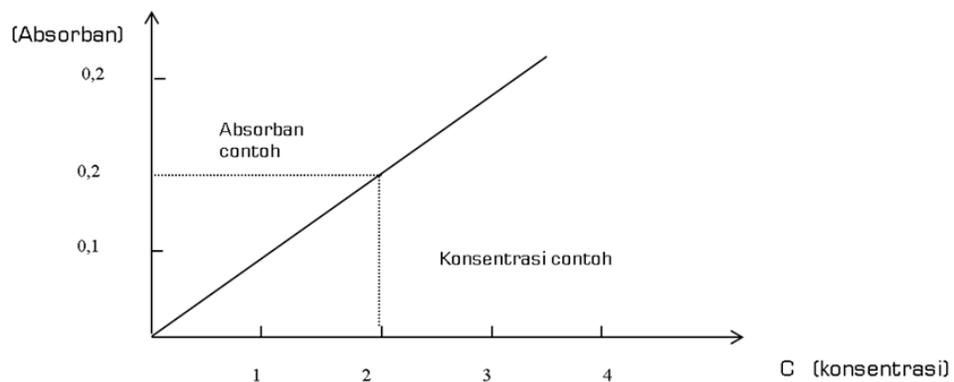
2) Menyiapkan larutan standar

Dalam pengukuran menggunakan spektrofotometer serapan atom (AAS) larutan-larutan yang akan diukur/diuji mempunyai konsentrasi yang sangat rendah, sehingga larutan standar yang diperlukan untuk analisis itu juga harus dibuat dalam konsentrasi yang sangat rendah. Penyiapan larutan standar jarang dilakukan dengan menimbang langsung zat standar yang diperlukan. Oleh karena itu yang umum dilakukan adalah mempersiapkan larutan-larutan induk yang mengandung 1000 ppm unsur yang akan diuji, dan kemudian larutan standar untuk bekerja (pengukuran contoh) disiapkan dengan pengenceran larutan induk tersebut. Larutan standar yang mempunyai konsentrasi kurang dari 10 ppm seringkali rusak apabila disimpan terlalu lama karena zat terlarutnya teradsorpsi pada dinding kaca labu ukur, jadi larutan tersebut tidak boleh disimpan lebih dari 1-2 hari.

Larutan induk idealnya disiapkan dari logam murni atau oksida logam murni dengan melarutkan dalam larutan asam yang sesuai, bahan kimia yang digunakan tentu saja harus dari kemurnian tinggi. Namun kebanyakan, larutan standar dibuat dengan cara melarutkan garam logam dalam air deionisasi asal garam logam tersebut memenuhi persyaratan sebagai standar primer.

Persyaratan bahan kimia yang dapat dijadikan sebagai standar primer diantaranya adalah :

a. Mempunyai kemurnian yang tinggi
b. Mempunyai berat molekul (BM) yang tinggi
c. Tidak bersifat higroskopis
d. Mudah didapat

Analisis kuantitatif dalam AAS adalah berdasarkan pada hasil pengukuran absorbans dari larutan contoh yang diaspirasikan. Konsentrasi analit dalam contoh uji dapat ditentukan dengan mengukur absorban (A), kemudian memplotkannya pada kurva kalibrasi yang sudah dibuat sebelumnya dengan interpolasi.

Gambar 23. Kurva kalibrasi

Interpolasi itu akan memberikan hasil yang benar (*accurate*) apabila tidak ada gangguan yang ditemui, gangguan ini misalnya ialah disebabkan oleh tidak samanya komposisi unsur-unsur dalam standar dengan dalam contoh.

Misalkan Ca dalam suatu larutan yang tidak mengandung fosfat atau silikat akan memberikan harga absorbans yang berbeda apabila ke dalam larutan tersebut dibubuhkan fosfat atau silikat. Jadi fosfat atau silikat ini adalah zat-zat penggangu dalam analisis Ca.

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini! Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

LEMBAR KERJA

Lembar Kerja 1

MENGANALISIS KANDUNGAN NITRAT DALAM AIR MINUM

Metode : spektrofotometri (SNI 01-3554-2006)

Prinsip

Penambahan sejumlah larutan asam klorida ke dalam larutan yang mengandung ion nitrat menyebabkan perubahan pada spektrum absorben nitrat yang dapat diukur dengan Spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 220 nm dan 275 nm.

Peralatan

a) spektrofotometer sinar tunggal atau sinar ganda yang mempunyai kisaran panjang gelombang 190 nm-900 nm dan lebar celah 0,2 nm - 2 nm serta telah dikalibrasi;
b) pipet volume 50 ml, terkalibrasi;
c) labu ukur 50 ml, terkalibrasi;
d) pipet ukur 10 ml, terkalibrasi.

Pereaksi

a) Air bebas nitrat;
Air suling yang telah mengalami 2 kali penyulingan.

b) Larutan intermediet;
Panaskan serbuk kalium nitrat, KNO_3 dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam. Larutkan 0,7218 g dalam air suling bebas nitrat encerkan hingga 1000 ml. 1 ml =

100 mg N03 – N. Pengawetan: tambahkan 2 ml $CHCl_3$, larutan ini stabil selama 6 bulan.

c) Larutan baku nitrat;

Encerkan 100 ml larutan baku nitrat menjadi 1000 ml dengan air suling.

1 ml = 10 µg NO_3 – N. Pengawetan: tambahkan 2ml $CHCl_3$, larutan ini stabil selama 6 bulan.

d) Larutan HCl 1N.

Cara kerja

a) Pembuatan kurva kalibrasi
b) Buat larutan standar kalibrasi nitrat dengan kepekatan 1; 2; 3; 4; dan 5 mg NO3-N/l dengan cara pipet masing-masing 5; 10; 15; 20; dan 25 ml larutan baku nitrat ke dalam labu ukur 50 ml. Impitkan volumenya sampai tanda tera dengan air suling bebas nitrat;
c) Pipet contoh 50 ml dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 100 ml;
d) Tambahkan 1 ml HCl 1 N ke dalam larutan standar dan contoh;
e) Periksa contoh dan standar pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 220 nm dan 275 nm.

Perhitungan

a) Kurangi pembacaan absorben standar dan contoh dari panjang gelombang 220 nm dengan panjang gelombang 275 nm.
b) Buatlah kurva kalibrasi konsentrasi dan absorben standar hasil pengurangan.
c) Hitung konsentrasi contoh dengan menggunakan kurva kalibrasi atau persamaan garis regresi linier. Dari hasil pengurangan absorben pada panjang gelombang 220 nm dan 275 nm.

Lembar Kerja 2.

ANALISIS KADAR SULFAT (SO_4) DALAM AIR

a. Prinsip

Ion sulfat bereaksi dengan barium klorida dalam suasana asam akan membentuk suspensi barium sulfat dengan membentuk kristal barium sulfat yang sama besarnya diukur dengan spektrofotometer dengan λ 420 nm.

b. Peralatan :

1) Labu ukur
2) Beaker glass
3) Corong gelas
4) Pipet volume
5) Kertas saring whatman
6) Spektrofotometer UV-VIS

c. Bahan :

1) Air suling bebas sulfat
2) Kertas saring bebas sulfat
3) Barium klorida, $BaCl_2.2H_2O$
4) Natrium sulfat anhidrat, Na_2SO_4
5) Larutan Buffer
6) Larutkan 30 gram magnesium klorida heksahidrat, $MgCl_2.6H_2O$, 5 gram natrium asetat trihidrat, $CH_3COONa.3\ H_2O$, 1 gram kalium nitrat, KNO_3 dan 20 ml asam asetat CH_3COOH (99%) dalam 500 ml air suling bebas sulfat dan tepatkan sampai 1000 ml
7) Larutan baku induk sulfat, SO_4^{2-} 100 mg/L
8) Keringkan serbuk Na_2SO_4 anhidrat dalam oven pada suhu 105^oC selama 24 jam kemudian dinginkan dalam desikator. Timbang 1.479 g Na_2SO_4 anhidrat dan larutkan dengan air suling bebas sulfat dalam labu ukur 1000 ml. Tepatkan dengan air suling sampai tanda tera dan kocok sampai homogen.

d. Langkah Kerja :

1) Pembuatan kurva kalibrasi dari larutan standar sulfat dengan kepekatan 0.0 mg/L; 10.0 mg/L; 20 mg/L; dan 30 mg/L; dengan cara pipet masing-masing 0.0 ml; 10 ml; 20 ml; dan 30 ml; larutan baku sulfat 100 mg/L dan masukkan masing-masing ke dalam labu ukur 100 ml. Tambahkan air suling bebas sulfat sampai tepat tanda tera.
2) Pindahkan masing-masing 50 ml larutan kerja sulfat ke dalam erlenmeyer 250 ml.
3) Pipte 50 ml contoh uji,dan masukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.
4) Tambahkan 20 ml larutan buffer dan homogenkan dengan cara diaduk menggunakan pengaduk magnet pada kecepatan tetap selama (60 ± 2) detik, sambil diaduk tambahkan 0,2 g sampai dengan 0,3 g barium klorida ke dalam larutan standar dan contoh
5) Ukur masing-masing larutan dengan Spektrofotometer UV-VIS pada λ 640 nm setelah (5 ± 0.5) menit penambahan barium klorida
6) Buat kurva kalibrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresi.

e. Perhitungan

Kadar sulfat (mg/L) = C X fp

C = kadar yang didapat dari hasil pengukuran (mg/L)

Fp = faktor pengenceran

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum
   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan
   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi analisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat

spektrofotometer yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....

4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

5. Tes Formatif

a. Jelaskan prinsip dari suatu metoda spektrofotometri!
b. Jelaskan jenis-jenis spektrofotometri berdasarkan sumber cahaya yang digunakan! Jelaskan perbedaan antara satu dengan yang lain!
c. Jelaskan bagian-bagian alat spektrofotometri Uv-Visible!
d. Jelaskan tahapan penyiapan sampel untuk pengujian secara spektrofometri!
e. Jelaskan cara penentuan kurva standar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri!

f. Bagaimana cara menentukan panjang gelombang maksimum di dalam pengujian spektrofotometer, jelaskan!

g. Jelaskan fungsi detektor dan syarat-syaratnya yang ada pada spektrofotometer!

h. Jelaskan cara menguji kandungan nitrat dalam air minum secara spektrofotometri

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1. Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.2
• Mendiskusikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan alat sfektrofotometer</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>2. Pengetahuan
1. Prinsip pengujian secara spektrofotometri i
2. Alat yang digunakan
3. Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan prinsip pengujian secara spektrofotometri!
2. Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian secara spektrofotometri!
3. Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektrofotometri!</td></tr>
<tr><td>3. Keterampilan
Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara spektropotometri</td><td>Tes Unjuk Kerja</td><td></td><td>4. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara menyiapkan alat dan bahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

KEGIATAN PEMBELAJARAN 4. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN DAN PERIKANAN SECARA KOLORIMETRI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri ini membahas tentang prinsip pengujian secara kolorimetri, mengenal alat kolorimeter, dan tahapan pengujian secara kolorimetri.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri.

2. Uraian Materi

Kolorimetri merupakan suatu metoda analisa kimia yang didasarkan pada tercapainya kesamaan besaran warna antara larutan sampel dengan larutan standar dengan menggunakan sumber cahaya polikromatis dan detektor mata. Metoda ini didasarkan pada penyerapan cahaya tampak dan energi radiasi lainnya oleh suatu larutan. Metoda ini dapat diterapkan untuk penentuan komponen zat warna ataupun komponen yang belum berwarna, namun dengan menggunakan reagen pewarna yang sesuai dapat menghasilkan senyawa bewarna yang merupakan fungsi dari kandungan komponennya. Jika telah tercapai kesamaan warna berarti jumlah molekul zat penyerap yang dilewati sinar pada kedua sisi telah sama dan ini dijadikan dasar perhitungan. Contohnya adalah larutan nitrit dibuat berwarna dengan pereaksi sulfanilamida dan N-(1-naftil)-etilendiamin. Jumlah radiasi yang diserap berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap dalam larutan.

Beberapa metode penentuan kadar dengan kolorimetri di antaranya:

a. Metode deret standar (misal tabung Nessler)

   Tabung-tabung seragam yang tidak berwarna dengan dasar datar (disebut tabung Nessler) digunakan untuk menampung larutan berwarna dengan jumlah volume tertentu. Pada dasarnya, pengukur Nessler bekerja berdasarkan prinsip perbandingan warna

b. Metode pengenceran

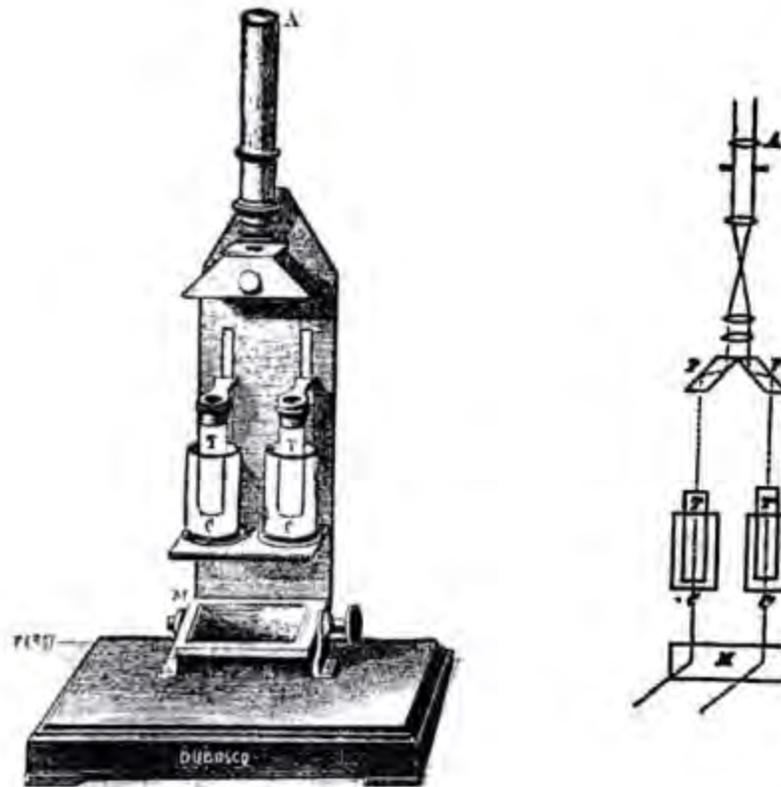
   Larutan sampel dan larutan standar dengan konsentrasi c_x dan c_y ditempatkan pada tabung kaca dengan ukuran yang sama. Larutan yang lebih pekat diencerkan sampai warnanya mempunyai intensitas yang sama dengan yang lebih encer.

c. Metode kesetimbangan

   Metode kesetimbangan adalah metode yang paling umum digunakan pada kolorimetri visual.

Metode Kolorimetri merupakan bagian dari metode spektroskopi sinar tampak yang berdasarkan pada panjang sinar tampak oleh suatu larutan berwarna, hanya senyawa yang dapat ditentukan dengan metode spektroskopi, senyawa yang tidak berwarna dapat dibuat menjadi berwarna, seperti ion Fe^{3+} dan SCN^- menghasilkan larutan berwarna merah.

Kolorimetri dilakukan dengan membandingkan larutan standar dengan aplikasi yang dibuat pada keadaan yang sama dengan menggunakan tabung Nessler atau kolorimeter Dubosque. Dengan kolorimetri elektronik, jumlah cahaya yang diserap berbanding lurus dengan konsentrasi larutan. Metode ini sering digunakan dalam menentukan konsentrasi besi dalam air minum.

Gambar 24. A Nessler Cylinder

Gambar 25. Gambar dan diagram dari Kolorimeter Duboscq, untuk mendapatkan visual pertandingan warna antara dua kolom cairan untuk sampai pada rasio konsentrasi kuantitatif

Pada kolorimetri, suatu duplikasi warna dilakukan dengan dua larutan yang mengandung zat yang sama pada kolom dengan kemampuan *areometer* penampang yang sama serta tegak lurus dengan arah sinar atau alat visualisasi. Biasanya zat-zat yang dapat menimbulkan warna adalah ion-ion kompleks. Warna tersebut muncul karena adanya elektron - elektron yang tidak berpasangan.

Konsentrasi berwarna dapat diperkirakan secara visual. Hal ini dapat dilakukan dengan cara membandingkan cuplikan dengan sederet larutan yang konsentrasinya sudah diketahui terlebih dahulu yaitu larutan standar.

Kolorimetri dibagi dua metode, yaitu :

a. Kolorimetri visual, menggunakan mata sebagai detektor.
b. Fotometri, menggunakan fotosel sebagai detektornya.

Metoda kolorimetri visual merupakan metoda yang konvensional dan sudah jarang digunakan karena tidak akurat. Hal ini disebabkan karena mata hanya sebagai detektor untuk melihat kesamaan warna, bukan sebagai alat ukur intensitas absorbsi.

Metoda analisa kolorimetri visual ada 4 macam yaitu :

a. Metoda standar seri (metoda nesler), pada metoda ini dibuat sederetan larutan standar dalam tabung yang berukuran sama dengan jenis yang sama pula.
b. Metoda keseimbangan, pada metoda ini dilakukan dengan cara membandingkan larutan sampel dengan larutan standar yang didasarkan pada ketebalan larutan standar yang divariasikan. Metoda ini dibagi tiga, yaitu :
    1) sistem slinder hechner
    2) bajerum comperator
    3) dubosq colorimetri

c. Metoda pengenceran : menggunakan satu zat standar dan sejumlah buret yang berisi blanko. Kosentrasi standar diencerkan dengan blanko sampai terjadi kesamaan warna.
d. Metoda standar sintesis : zat yang diselidiki diperoleh dengan cara penambahan sejumlah komponen standar terhadap suatu larutan blanko sampai terjadi kesamaan warna.

Syarat-syarat menentukan konsentrasi dengan metoda kolorimetri visual adalah sebagai berikut :

a. **Tinggi larutan konstan (*Constant Depht Methods*),** terbagi menjadi dua metoda :

   1) Tabung Nessler

      Pada metoda ini digunakan beberapa tabung reaksi berbentuk silinder. Masing-masing tabung diisi dengan larutan standar dengan konsentrasi terukur dan bervariasi dengan tinggi larutan yang sama. Tabung ini disusun pada rak tabung bercat hitam yang tidak mengkilat, agar tidak memantulkan sinar yang datang pada tabung. Kemudian larutan sampel dengan tinggi yang sama diletakkan di sela tabung-tabung tersebut dan bandingkan warna larutan standar dan sampel dengan melihat dari atas tabung (vertikal). Jika ada warna larutan standar yang sama dengan sampel, berarti konsentrasi sampel sama dengan larutan standar tersebut. Atau jika warnanya berada diantara 2 warna larutan standar yang berdekatan, berarti konsentrasi sampel berada dalam range dari konsentrasi kedua larutan tersebut.

   2) *Bajerum Comparator*

      Pada alat ini, untuk mencapai kesamaan warna antara larutan sampel dengan larutan standar dilakukan dengan cara menggeser larutan sampel disepanjang skala yang berada di atas bajerum. Bajerum comparator ini merupakan suatu kotak transparan persegi panjang yang dibagi dua menurut diagonal bidangnya. Bagian depan dimana

skala tertera, diisi dengan larutan standard an bagian lainnya diisi dengan blanko. Pengamatan dialakukan dari bagian depan (horizontal).

b. **Tinggi larutan berbeda (*Variable Depth Methods*),** terbagi menjadi dua metoda :

1) Tabung Herner

Tabung Herner berupa sepasang silinder dengan keran untuk mengeluarkan larutan dari dalam silinder yang warna larutannya lebih pekat sehingga tingginya berubah, agar didapatkan warna yang sama pada kedua silinder.

2) Kolorimeter Dubosq

Pada alat ini kesamaan warna didapatkan dengan cara mengatur tinggi rendahnya pemberat (plunger), agar tinggi larutan dalam bejana berubah sehingga didapatkan intensitas warna yang sama pada spiltfield.

Syarat metoda kolorimetri adalah larutan harus bewarna. Jika larutan tidak bewarna maka dilakukan dahulu pengomplekan dengan penambahan reagen pewarna. Sedangkan syarat pewarnaan ini antara lain :

- warna yang terbentuk harus stabil
- reaksi pewarnaan harus selektif
- larutan harus transparan
- kesensitifannya tinggi
- ketepatan ulang tinggi
- warna yang terbentuk harus merupakan fungsi dari konsentrasi

Kolorimeter

Gambar 26. 1.0 ml Digital Photo Colorimeter (Model no. KCD – 10D)

http://www.kaycoindia.co.in/colorimeters/images/C-Digital-Photocolorimeter1.jpg

Kolorimeter adalah instrumen alat uji yang peka terhadap cahaya yang mengukur berapa banyak warna yang diserap oleh objek atau substansi. Hal ini menentukan warna berdasarkan komponen dari cahaya yang diserap oleh objek, Ketika cahaya melewati medium, sebagian dari cahaya yang diserap, dan sebagai hasilnya, ada penurunan beberapa banyak cahaya yang dipantulkan oleh medium. Alat uji kolorimeter merupakan solusi bagi pengguna untuk dapat menganalisis konsentrasi zat tertentu dalam medium tersebut. Perangkat ini berdasar pada hukum *Beer Lambert* yang menyatakan bahwa penyerapan cahaya yang ditransmisikan melalui media berbanding lurus dengan konsentrasi medium.

Jenis Kolorimeter

Ada berbagai jenis kolorimeters, termasuk densitometer warna, yang mengukur kepadatan warna-warna primer, dan fotometer warna, yang mengukur refleksi dan transmisi warna. Spektrofotometer adalah jenis fotometer yang mengukur intensitas cahaya, sering dikelompokkan bersama dengan kolorimeter, namun secara teknis merupakan perangkat yang berbeda. Keduanya bergantung pada hukum *Beer-Lambert* untuk menghitung konsentrasi zat dalam larutan, tetapi dilakukan dengan cara yang berbeda. Kolorimeter hanya mengukur warna merah, hijau, dan warna biru terang, sedangkan spektrofotometer dapat mengukur intensitas setiap panjang gelombang cahaya tampak. Secara umum, spektrofotometer lebih rumit dan

kurang kasar daripada kolorimeter kebanyakan, keduanya harus ditangani dengan hati-hati dan memerlukan kalibrasi ulang.

Bagian Kolorimeter

a. Read % transmission = display / pembacaan yang menunjukkan perintah yang digunakan
b. Set % transmission = untuk mengatur perintah yang akan digunakan
c. Sample carrier = untuk tempat sampel
d. Set wavelength = untuk mengeset panjang gelombang
e. Filter – set to read = untuk pembacaan setelah penyaringan
f. On / off = tombol untuk menghidupkan dan mematikan alat

Cara Kerja Kolorimeter

Pada posisi paling dasar, kolorimeter bekerja dengan melewati panjang gelombang cahaya tertentu melalui solusi, dan kemudian mengukur cahaya yang datang melalui di sisi lain. Dalam kebanyakan kasus, lebih terkonsentrasi solusinya yaitu cahaya lampu akan lebih banyak diserap, dan dapat dilihat pada perbedaan antara cahaya pada sumber asalnya dan setelah itu melewati solusi. Untuk mengetahui konsentrasi suatu sampel, maka sampel dilihat dari solusi di mana konsentrasi diketahui yang pertama disiapkan dan diuji. Ini kemudian diplot pada grafik dengan konsentrasi pada satu sumbu dan absorbansi di sisi lain untuk membuat kurva kalibrasi, ketika sampel tidak diketahui diuji, hasilnya dibandingkan dengan sampel yang dikenal pada kurva untuk menentukan konsentrasi. Beberapa jenis kolorimeters otomatis akan membuat kurva kalibrasi didasarkan pada kalibrasi awal.

Kalibrasi:

Kalibrasi kolorimeter hampir menyerupai spektrofotometer, yakni dilakukan dengan mengikuti prosedur sebagai berikut:

a. Dilakukan dengan larutan blanko (berisi pelarut murni yang digunakan dalam sampel) dengan kuvet yang sama.
b. Setiap perubahan panjang gelombang diusahakan dilakukan proses kalibrasi.
c. Proses kalibrasi pada pengukuran dalam waktu yang lama untuk satu macam panjang gelombang, dilakukan secara periodik selang waktu per 30 menit.
d. Jika tidak digunakan dalam waktu yang lama, sesekali dilakukan pemanasan. Dengan cara menghisupkan selamam beberapa menit.

Dengan adanya proses kalibrasi pada maka akan membantu pemakai untuk memperoleh hasil yang akurat dan mencegah kerusakan .

Perawatan dan Penyimpanan:

Untuk kolorimeter disimpan ditempat khusus yang jauh dari sinar matahari. Tidak bercampur dengan bahan bahan kimia karena dapet menyebabkan korosif. Untuk perawatan cukup di bersihkan dengan kain yang halus .

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini. Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

Lembar Kerja

Acara : menganalisis bahan hasil pertanian secara kolorimetri

Tujuan : siswa diharapkan dapat menentukan konsentrasi Cu^{2+} dalam suatu bahan cair (sampel)

Alat :

- Sepasang labu ukur 100 mL yang identik
- Pipa kaca berbentuk U
- Slang karet dan penjepitnya
- Satu set alat Bajerum Komparator

Bahan :

- Larutan standar Cu^{2+} 1000 ppm
- NaOH 1 : 1
- Aquadest

Langkah Kerja :

1. Pembuatan Larutan Standar
   a. Buat larutan standar CU^{2+} 100 ppm dengan memipet larutan standar induk 1000 ppm ke dalam labu 250 mL, lalu tambahkan lalu tambahkan 25 mL NH_4OH 1:1 dan encerkan sampai tanda batas dengan aquades. Siapkan untuk 2 buah.
   b. Untuk silinder hehner, dengan bantuan slang dan pipa U isap larutan ini kedalam gelas ukur I sehingga membentuk sistem bejana berhubungan.

c. Larutan tugas diisikan sebanyak 50 mL ke dalam gelas ukur II/silinder sampel, lalu pasangkan bergandengan dengan silinder berisikan standar yang telah membentuk sistem bejana berhubungan terhadap labu ukur standar dengan latar belakang warna putih.
d. Lakukan pengamatan secara vertikal terhadap kedua larutan. Untuk mendapatkan kesamaan warna dilakukan dengan mengatur tinggi rendahnya larutan standar.
e. Untuk ketepatan pengamatan, alaslah gelas ukur tersebut dengan kertas putih dan tempatkan kedua gelas ukur berdekatan.
f. Jika telah tercapai kesamaan warna, maka ukurlah ketinggian larutan standar.

Konsentrasi sampel didapatkan dengan persamaan :

$$Cx = \frac{\text{Skala larutan standar}}{\text{Skala larutan sampel}} \times C \text{ standar}$$

2. Untuk Bajerum Comparator
   a. Masukkan larutan standar ke dalam sisi Bajerum bagian depan, pada sisi belakangnya diisikan larutan balnko pada ketinggian yang sama.
   b. Masukkan larutan sampel ke dalam wadahnya dengan isi lebih kurang 2/3 bagian.
   c. Tempatkan wadah sampel pada bagian atas alat bajerum comperator.
   d. Lakukan pengamatan secara horizontal lalu geser kedudukan larutan sampel sedemikian rupa sampai didapatkan tepat kesamaan pengamatan warna pada kedua sisi atas / bawah dengan latar belakang warna putih.
   e. Setelah didapatkan kesamaan warna, bacalah posisi skalanya dan konsentrasi tugas dapat dinyatakan sebagai berikut

$$Cx = \frac{\text{Skala larutan standar}}{\text{Skala larutan sampel}} \times C \text{ standar}$$

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum
   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan
   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat kolorimeter yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

5. Tes Formatif

a. Jelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri!
b. Jelaskan beberapa metoda analisa kolorimetri visual!
c. Sebutkan dan jelaskan bagian-bagian alat kolorimeter!
d. Jelaskan prosedur kalibrasi alat kolorimeter!
e. Jelaskan faktor-faktor apa saja yang dapat berpengaruh terhadap warna pada metode kolorimetri?

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.2
• Mendiskusikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan alat kolorometer dalam pengujian bahan hasil peranian dan perikanan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
1. Prinsip pengujian secara kolorimetri
2. Alat yang digunakan
3. Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan prinsip pengujian secara kolorimetri!
2. Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian secara kolorimetri!
3. Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri!</td></tr>
<tr><td>Keterampilan
Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kolorimetri</td><td>Tes Unjuk Kerja</td><td></td><td>1. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara menyiapkan alat dan bahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

KEGIATAN PEMBELAJARAN 5. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN DAN PERIKANAN SECARA KONDUKTOMETRI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri ini membahas tentang titrasi konduktometri, mengenal alat konduktometer, dan pengujian bahan secara konduktometri.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri.

2. Uraian Materi

Salah satu sifat larutan elektrolit adalah kemampuannya untuk menghantarkan arus listrik. Sifat hantaran ini sangat berguna di dalam pemecahan berbagai persoalan dalam bidang elektroanalisis. Secara kuantitatif sifat hantaran ini dapat digunakan untuk analisis suatu zat yang dipelajari dalam konduktometri.

Konduktometri merupakan metode analisis kimia berdasarkan daya hantar listrik suatu larutan. Daya hantar listrik (G) suatu larutan bergantung pada jenis dan konsentrasi ion di dalam larutan. Daya hantar listrik berhubungan dengan pergerakan suatu ion di dalam larutan ion yang mudah bergerak mempunyai daya hantar listrik yang besar. Daya hantar listrik (G) merupakan kebalikan dari tahanan (R), sehingga daya hantar listrik mempunyai satuan ohm. Bila arus listrik dialirkan dalam suatu larutan mempunyai dua elektroda, maka daya hantar listrik (G) berbanding lurus dengan luas permukaan elektroda (A) dan berbanding terbalik dengan jarak kedua elektroda (l).

$$G = \frac{l}{R} = k.\left(\frac{A}{l}\right)$$

dimana k adalah daya hantar jenis dalam satuan *$ohm^{-1}.cm^{-1}$*

a. Daya Hantar Ekivalen (Equivalen Conductance)

Kemampuan suatu zat terlarut untuk menghantarkan arus listrik disebut daya hantar ekivalen (^) yang didefinisikan sebagai daya hantar satu gram ekivalen zat terlarut di antara dua elektroda dengan jarak kedua electroda 1cm. Yang dimaksud dengan berat ekuivalen adalah berat molekul dibagi jumlah muatan positif atau negatif. Contoh berat ekivalen $BaCl_2$ adalah BM $BaCl_2$ dibagi dua. Volume larutan (cm^3) yang mengandung satu gram ekivalen zat terlarut diberikan oleh, V = $\frac{100}{C}$ dengan C adalah konsentrasi (ekivalen per cm), bilangan 1000 menunjukkan 1 liter = 1000 cm^3. Volume dapat juga dinyatakan sebagai hasil kali luas (A) dan jarak kedua elektroda (1). V= l. A , dengan l sama dengan 1 cm , V = A = $\frac{100}{C}$. Substitusi persamaan ini ke dalam persamaan G diperoleh, G = $\frac{1}{R}$ = $\frac{1000k}{C}$

Daya hantar ekivalen (^) akan sama dengan daya hantar listrik (G) bila 1 gram ekivalen larutan terdapat di antara dua elektroda dengan jarak 1 cm.

$$\wedge = \frac{1000k}{C}$$

Daya hantar ekivalen pada larutan encer diberi simbol yang harganya tertentu untuk setiap ion.

b. Pengukuran Daya Hantar Listrik

Pengukuran daya hantar memerlukan sumber listrik, sel untuk menyimpan larutan dan jembatan (rangkaian elektronik) untuk mengukur tahanan larutan.

1) Sumber listrik

   Hantaran arus DC (misal arus yang berasal dari batrei) melalui larutan merupakan proses faradai, yaitu oksidasi dan reduksi terjadi pada kedua elektroda. Sedangkan arus AC tidak memerlukan reaksi elektro kimia pada elektroda- elektrodanya, dalam hal ini aliran arus listrik bukan akibat proses faradai. Perubahan karena proses faradai dapat merubah sifat listrik sel, maka pengukuran konduktometri didasarkan pada arus nonparaday atau arus AC.

2) Tahanan Jembatan

   Jembatan *Wheatstone* merupakan jenis alat yang digunakan untuk pengukuran daya hantar.

3) Sel

   Salah satu bagian konduktometer adalah sel yang terdiri dari sepasang elektroda yang terbuat dari bahan yang sama. Biasanya elektroda berupa logam yang dilapisi logam platina untuk menambah efektifitas permukaan elektroda.

Konduktivitas ditentukan oleh jenis ion. Sehingga untuk mengetahui kemampuan tiap jenis ion, maka perlu dilakukan percobaan dengan larutan yang sangat encer, sehingga tidak dipengaruhi oleh ion lain. Pada kondisi seperti ini, maka konduktivitas larutan merupakan jumlah konduktivitas ion positif (kation) dan ion negative (anion).

$\Lambda_0 = \Lambda_0$ kation + Λ_0 anion

Λ_o adalah konduktivitas molar ion pada larutan sangat encer (konsentrasi mendekati nol). Harga konduktovitas molar beberapa ion dengan konsentrasi mendekati nol di tabelkan sebagai berikut:

Tabel. Konduktivitas molar ionik batas pada 25°C.

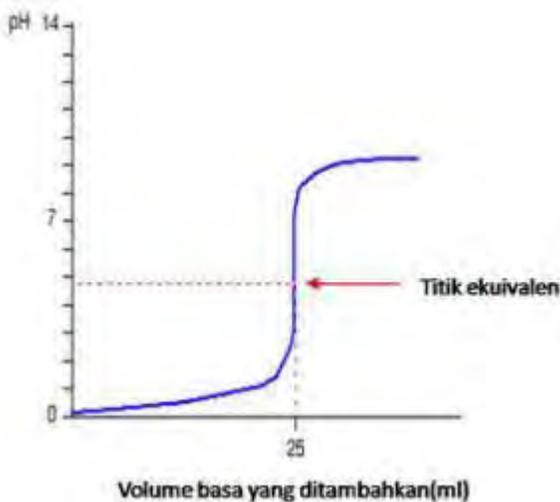
Jenis	Ion	Λ_o
Kation	H^+	349,8
	Na^+	50,1
	K^+	73,5
	NH_4^+	73,5
Anion	OH^-	1978,3
	F^-	55,4
	Cl^-	76,3
	NO_3^-	71,5
	CH_3COO^-	40,9

c. Titrasi Konduktometri

Titrasi konduktometri digunakan untuk menentukan daya hantar larutan sampel setelah ditambahkan titran. Didalam titrasi konduktometri kita akan mendapatkan beberapa kemudahan yang mungkin tidak kita dapatkan jika kita menggunakan dengan titrasi lainya, misal tidak menggunakan indikator, karena dalam titrasi konduktometri ini kita hanya mengukur daya hantar larutan. Jadi dalam titrasi konduktometri ini kita tidak perlu mencari titik ekuivalen dengan melihat adanya perubahan warna. Walaupun demikian masih banyak kelemahan–kelamahan dalam titrasi konduktometri ini. Karena kita tahu bahwa dalam titrasi konduktometri hanya terbatas untuk larutan yang tergolong kedalam larutan elektrolit saja. Sedangkan untuk larutan non elektrolit tidak dapat menggunakan titrasi konduktometri. Titrasi konduktometri ini sangat berhubungan dengan daya hantar listrik, jadi juga akan berhubungan dengan adanya ion–ion dalam larutan yang berperan untuk menghantarkan arus listrik dalam larutan. Arus listrik ini tidak akan bisa

melewati larutan yang tidak terdapat ion– ion, sehingga larutan non elektrolit tidak bisa menghantarkan arus listrik.

Dalam titrasi konduktometri ini juga sangat berhubungan dengan konsentrasi dan temperatur dari larutan yang akan ditentukan daya hantarnya. Sehingga kita harus menjaga temperatur larutan agar berada dalam keadaan konstan, sehingga kita dapat membedakan perbedaan dari daya hantar larutan hanya berdasarkan perbedaan konsentrasi saja. Jika temperatur berubah–ubah maka bisa saja konsentrasi yang besar seharusnya memilki daya hantar yang besar malah memiliki daya hantar yang kecil karena suhunya menurun. Sehingga ion–ion dalam larutan tidak dapat begerak dengan bebas.

Titrasi konduktometri metode konduktometri dapat digunakan untuk menentukan titik ekuivalen suatu titrasi, berupa beberapa contoh titrasi konduktometri adalah titrasi asam kua- basa kuat sebagai contoh larutan HCl dititrasi oleh NaOH. Kedua larutan ini adalah penghantar listrik yang baik. Kurva titrasi ditunjukkan pada gambar 5.1. dibawah ini,

Gambar 27. Kurva titrasi

Daya hantar H^+ turun sampai titik ekuivalen tercapai. Dalam hal ini jumlah H^+ makin berkurang di dalam larutan, sedangkan daya hantar OH^- berrtambah setelah titik ekuivalen (TE) tercapai karena jumlah OH^- di dalam larutan bertambah. Jumlah ion Cl^- di dalam larutan tidak berubah, karena itu daya hantar konstan dengan penambahan NaOH. Daya hantar ion Na^+ bertambah secara perlahan-lahan sesuai dengan jumlah ion Na^+.

Hal-hal berikut harus selalu diingat-ingat ketika melakukan titrasi :

1) Penyesuaian PH

Untuk banyak titrasi EDTA, pH larutan sangat menentukan sekali, seringkali harus dicapai batas-batas dari 1 satuan pH dan sering batas-batas dari 0,5 satuan pH harus dicapai, agar suatu titrasi yang sukses dapat dilakukan. Untuk mencapai batas-batas kontrol yang begitu sempit, perlu digunakan sebuah pH-meter sewaktu menyesuaikan nilai pH larutan, dan bahkan untuk kasus di mana batas pH adalah sedemikian sehingga kertas uji pH boleh digunakan untuk mengontrol penyesuain pH, hanyalah kertas dari jenis dengan jangkau yang sempit boleh digunakan.

2) Pemekatan ion logam yang akan dititrasi

Kebanyakan titrasi berhasil dengan baik dengan 0,25 milimol ion logam yang bersangkutan dalam volume 50-150 cm^3 larutan. Jika konsentrasi ion logam itu terlalu tinggi; maka titik akhir mungkin akan sangat sulit untuk dibedakan, dan jika kita mengalami kesulitan dengan titik akhir, maka sebaiknya mulailah lagi dengan satu porsi larutan uji yang lebih sedikit, dan encerkan ini sampai 100-150 cm^3 sebelum menambahkan medium pembufer dan indikator, lalu diulangi titrasi itu.

3) Banyaknya indikator

Penambahan indikator yang terlalu banyak merupakan kesalahan yang harus kita hindarkan. Dalam banyak kasus, warna yang ditimbulaan oleh indikator sanagt sekali bertambah kuat selama jalannya titrasi, dan labih jauh, banayak indikator memperlihatkan dikroisme, yaitu terjadi suatu perubahan warna peralihan pada satu dua tetes sebelum tiik akhir yang sebenarnya.

4) Pencapaian titik-akhir

Dalam banyak titrasi EDTA, perubahan warna disekitar titik akhir, mungkin lambat. Dalam banyak hal-hal demikian, sebaiknya titran ditambahkan dengan hati-hati sambil larutan terus menerus diaduk; dianjurkan untuk memakai pengaduk magnetic. Sering, titik akhir yang lebih tajam dapat dicapai jika larutan dipanaskan sampai sekitar kira-kira 40^{O}C. Titrasi dengan CDTA selalu lebih lambat dalam daerah titik akhir divbanding dengan titrasi EDTA padanan.

5) Deteksi perubahan warna.

Dengan semua indikator ion logam yang digunakan pada titrasi kompleksometri, deteksi titik akhir dan titrasi bergantung pada pengenalan suatu perubahan warna yang tertentu; bagi banyak pengamat, ini dapat merupakan tugas yang sulit, dsan bagi yang menderita buta warna, bolehlah dikatakan mustahil. Kesulitan-kesulitan ini dapat diatasi dengan menggantikan mata dengan suatu fotosel yang jauh lebih peka, dan meniadakan unsur manusiawi. Untuk melakukan operasi yang dituntut, perlu tersedia sebuah kolorimeter atau spektrofotometer dalam mana kompartemen kuvetnya adalah cukup besar untuk memuat bejana titrasi (labu Erlenmeyer atau piala

berbentuk tinggi) Spektrofotometer Unicam SP 500 merupakan contoh dari instrumen yang sesuai untuk tujuan ini, dan sejumlah fototitrator tersedia secara komersial.

6) Metode lain untuk mendeteksi titik akhir.

Disamping deteksi secara visualdan secara spektrofotometri dari titik akhir dalam titrasi EDTA denagn bantuan indikator ion logam, metode berikut ini juga tersedia untuk deteksi titik akhir, yaitu:

a) Titrasi potensiometer dengan memakai sebuah elektroda merkurium
b) Titrasi potensiometer dengan memakai sebuah elektroda ion selektif yang berespons terhadap ion yang sedang dititrasi.
c) Titrasi potensiometri dengan memekai sebuah sistem elektroda platinum mengkilat kalomel jenuh, ini dapat dipakai bila reaksi melibatkan dua keadaan oksidasi berlainan (dari) suatu logam tertentu
d) Dengan titrasi konduktometri
e) Dengan titrasi amperometri
f) Dengan titrasi entalpimetri

Pengukuran konduktivitas (hantaran) dapat pula di gunakan untuk penentuan titik ahir titrasi. Titrasi konduktometri dapat dilakukan dengan dua cara, tergantung pada frekuensi arus yang digunakan.

Jika frekuensi arus bertambah cukup besar, maka pengaruh kapasitan dan induktif akan makin besar. Adapun jenis titrasi tersebut adalah sebagai berikut:

1. Titrasi konduktometri yang dilakukan dengan frekuensi arus rendah (maksimum 300Hz)

Penambahan suatu elektolit ke elektrolit lain pada keadaan yang tidak ada perubahan volum yang begitu besar akan mempengaruhi konduktivitas larutan terjadi reaksi ionik atau tidak. Jika tidak terjadi reaksi ionik, maka perubahan konduktivitas sedikit sekali atau hampir tidak ada. Bila terjadi reaksi ionik, maka perubahan konduktivitas yang relatif cukup besar sehingga dapat diamati, seperti pada titrasi basa kuat oleh asam kuat. Dalam titrasi ini terjadi penurunan konduktivitas karena terjadi penggantian ion hidrogen, yang mempunyai konduktivitas tinggi, dengan kation lain yang mempunyai konduktivitas rendah. Pada titrasi penetralan, pengendapan, dan lain-lain, penentuan titik ahir titrasi titrasi di tentukan berdasarkan perubahan koduktivitas (hantaran) dari reaksi kimia yang terjadi. Hantaran di ukur pada setian penambahan sejumlah pereaksi dan titik pengukuran tersebut bila di alurkan memberikan 2 garis lurus yang saling perpotongan dinamakan titik ekuivalen titrasi. Ketepatan metode ini bergantung pada sudut perpotongan dan kerapatan titik pengukuran. Secara praktik konsentrasi penitran 20-100 kali lebih kali pekat dari larutan yang di titrasi. Kelebihan titrasi ini, baik untuk asam yang sangat lemah seperti asam borat dan fenol yang secara potensiometri tidak dapat di lakukan. Selain itu, titrasi konduktometri tidak perlu kontrol suhu.

2. Titrasi yang dilakukan dengan menggunakan frekuensi arus tinggi disebut titrasi frekuensi tinggi

   Metode ini sesuai untuk sel yang terdiri atas sistem kimia yang dibuat bagian dari atau di pasangkan dengan sirkuit osilator beresonasi pada frekuensi beberapa mega hertz. Keuntungan Keuntungan cara ini antara lain elektroda di tempatkan di luar sel dan tidak langsung kontak dengan larutan uji. Kerugiannya adalah respon tidak spesifik

karena bergantung pada konduktovitas(hantaran) dan tetapan di elektrik dari sistem.

Menurut hukum Ohm

$$I = \frac{E}{R}$$

di mana: I = arus dalam ampere, E = tegangan dalam volt, R = tahanan dalam ohm. Hukum di atas berlaku bila difusi dan reaksi elektroda tidak terjadi. Konduktansi sendiri didefinisikan sebagai kebalikan dari tahanan sehingga I = EL. Satuan dari hantaran (konduktansi) adalah mho. Hantaran L suatu larutan berbanding lurus pada luas permukaan elektroda a, konsentrasi ion persatuan volume larutan Ci, pada hantaran ekuivalen ionik S1, tetapi berbanding terbalik dengan jarak elektroda d, sehingga:

$$L = \frac{a}{d}.S.Ci.S1$$

Tanda S menyatakan bahwa sumbangan berbagai ion terhadap konduktansi bersifat aditif. Karena a, dan d dalam satuan cm, maka konsentrasi C tentunya dalam ml. Bila konsentrasi dinyatakan dalam normalitas, maka harus dikalikan faktor 1000. nilai d/a = S merupakan faktor geometri selnya dan nilainya konstan untuk suatu sel tertentu sehingga disebut tetapan sel. Untuk mengukur konduktivitas suatu larutan, larutan ditaruh dalam sebuah sel, yang tetapan selnya telah ditetapkan dengan kalibrasi dengan suatu larutan yang konduktivitasnya diketahui dengan tepat, misal, suatu larutan kalium klorida standar. Sel ditaruh dalam satu lengan dari rangkaian jembatan Wheatstone dan resistansnya diukur. Pengaliran arus melalui larutan suatu elektrolit dapat menghasilkan perubahan-perubahan dalam komposisi larutan di dekat sekali dengan lektrode-elektrode, begitulah potensial- potensial

dapat timbul pada elektrode-elektrode, dengan akibat terbawanya sesatan-sesatan serius dalam pengukuran-pengukuran konduktivitas, kecuali kalau efek-efek polarisasi demikian dapat dikurangi sampai proporsi yang terabaikan.

Konduktivitas suatu larutan elektrolit, pada setiap temperatur hanya bergantung pada ion-ion yang ada, dan konsentrasi ion-ion tersebut. Bila larutan suatu elektrolit diencerkan, konduktivitas akan turun karena lebih sedikit ion berada per cm^3 larutan untuk membawa arus. Jika semua larutan itu ditaruh antara dua elektrode yang terpisah 1 cm satu sama lain dan cukup besar untuk mencakup seluruh larutan, konduktans akan naik selagi larutan diencerkan. Ini sebagian besar disebabkan oleh berkurangnya efek-efek antar-ionik untuk elektrolit- elektrolit kuat dan oleh kenaikan derajat disosiasi untuk elektrolit-elektrolit lemah.

Penambahan suatu elektrolit kepada suatu larutan elektrolit lain pada kondisi-kondisi yang tak menghasilkan perubahan volume yang berarti akan mempengaruhi konduktans (hantaran) larutan, tergantung apakah ada tidaknya terjadi reaksi-reaksi ionik. Jika tak terjadi reaksi ionik, seperti pada penambahan satu garam sederhana kepada garam sederhana lain (misal, kalium klorida kepada natrium nitrat), konduktans hanya akan naik semata-mata. Jika terjadi reaksi ionik, konduktans dapat naik atau turn; begitulah pada penambahan suatu basa kepada suatu asam kuat, hantaran turun disebabkan oleh penggantian ion hidrogen yang konduktivitasnya tinggi oleh kation lain yang konduktivitasnya lebih rendah. Ini adalah prinsip yang mendasari titrasi-titrasi konduktometri yaitu, substitusi ion-ion dengan suatu konduktivitas oleh ion-ion dengan konduktivitas yang lain.

Biasanya konduktometri merupakan prosedur titrasi, sedangkan konduktansi bukanlah prosedur titrasi. Metode konduktansi dapat digunakan untuk mengikuti reaksi titrasi jika perbedaan antara

konduktansi cukup besar sebelum dan sesudah penambahan reagen. Tetapan sel harus diketahui. Berarti selama pengukuran yang berturut-turut jarak elektroda harus tetap. Hantaran sebanding dengan konsentrasi larutan pada temperatur tetap, tetapi pengenceran akan menyebabkan hantarannya tidak berfungsi secara linear lagi dengan konsentrasi. Hendaknya diperhatikan pentingnya pengendalian temperatur dalam pengukuran-pengukuran konduktans. Sementara penggunaan termostat tidaklah sangat penting dalam titrasi konduktometri, kekonstanan dalam temperatur dituntut, tetapi biasanya kita hanya perlu menaruh sel konduktivitas itu dalam bejana besar penuh air pada temperatur laboratorium. Penambahan relatif (dari) konduktivitas larutan selama reaksi dan pada penambahan reagensia dengan berlebih, sangat menentukan ketepatan titrasi; pada kondisi optimum kira-kira 0,5 persen. Elektrolit asing dalam jumlah besar, yang tak ambil bagian dalam reaksi, tak boleh ada, karena zat-zat ini mempunyai efek yang besar sekali pada ketepatan. Akibatnya, metode konduktometri memiliki aplikasi yang jauh lebih terbatas ketimbang prosedur-prosedur visual, potensiometri ataupun amperometri.

Konduktometer

Konduktometer adalah alat yang digunakan untuk menentukan daya hantar suatu larutan dan mengukur derajat ionisasi suatu larutan elektrolit dalam air dengan cara menetapkan hambatan suatu kolom cairan selain itu konduktometer memiliki kegunaan yang lain yaitu mengukur daya hantar listrik yang diakibatkan oleh gerakan partikel di dalam sebuah larutan. Faktor-faktor yang mempengaruhi daya hantar adalah perubahan suhu dan konsentrasi. Dimana jika semakin besar suhunya maka daya hantar pun juga akan semakin besar dan apabila semakin kecil suhu yang digunakan maka sangat kecil pula daya hantar yang dihasilkan dan begitu dengan

Gambar 28. Konduktometer

sebaliknya antara konsentrasi dan daya hantar. Oleh sebab itu pengaruh suhu dan konsentrasi dapat mempengaruhi daya hantar.

Prinsip kerja konduktometer adalah bagian konduktor atau yang di celupkan dalam larutan akan menerima rangsangan dari suatu ion-ion yang menyentuh permukaan konduktor, lalu hasilnya akan diproses dan dilanjutkan pada outputnya yakni berupa angka . Semakin banyak konsentrasi suatu misel dalam larutan maka semakin besar nilai daya hantarnya karena semakin banyak ion-ion dari larutan yang menyentuh konduktor dan semakin tinggi suhu suatu larutan maka semakin besar nilai daya hantarnya, hal ini karena saat suatu partikel berada pada lingkungan yang suhunya semakin bertambah maka pertikel tersebut secara tidak lansung akan mendapat tambahan energi dari luar dan dari sinilah energi kinetik yang dimiliki suatu partikel semakin tinggi (gerakan molekul semakin cepat). Sehingga semakin sering suatu konduktor menerima sentuhan dari ion-ion larutan.

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini. Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

Lembar Kerja

TITRASI KONDUKTOMETRI

Tujuan Percobaan

1. Melakukan titrasi konduktometri
2. Mencari hantaran (konduktivitas) dari beberapa konsentrasi larutan

Alat dan Bahan Yang Digunakan

Alat:

1. Konduktometer 660 dan Dosimat 665
2. Elektroda immersion cell dengan K= 0,79 cm-1
3. Resisten thermometer Pt-100
4. Gelas kimia 50 ml, 100 ml, 250 ml
5. Pipet seukuran 10 ml, 1 ml
6. Labu takar 50 ml, 500 ml
7. Labu semprot dan Bola isap

DEUSTCHE METROHM Model 660 Conductivity Meter

Bahan:

1. KCl (khusus untuk immersion cell)
2. NaOH 1N
3. HCl 1N
4. Aquadest dan Es

Prosedur Percobaan

1. Kalibrasi Konduktometri
   a) Memasang sel konduktivitas dengan konstanta sel tertentu pada socket warna hitam (A1 dan B2) dan resistan thermometer Pt-100 pada socket warna merah (A3 dan B4).
   b) Memasukkan harga konstanta sel pada konduktometer. Untuk sel dengan konstanta 0,79 cm-1 maka kita memasukkan angka 7,9 kemudian menekan tombol (x 0,1) yang ada pada deretan diatasnya sebagai factor pengali sehingga nilai konstanta sel menjadi 0,79 cm-1 (7,9 x 0,1 = 0,79).
   c) Memasukkan temperatur larutan pada "temp" dan menekan tombol "temp". Kemudian memilih (set) temperatur pengukuran (0,0……99,9^{0}C) yaitu 150^{0}C. Kita tidak menggunakan Pt-100, maka kita menekan tombol "temp" karena kita menggunakan titrasi manual dan bukan otomatis.
   d) Mengatur koefisien temperatur pada harga (1,0…..3,9) sesuai dengan tabel dibawah ini, untuk zat yang tidak tercantum dalam tabel ini memasukkan harga 2,0. Karena kita menggunakan KCl dengan koefisien suhu 1,95 maka kita membulatkannya senilai 2,0.
   e) Tabel koefisien temperatur dari beberapa zat

Gambar 29. ???

http://labexchange-service.com

Zat 1 M (18^{O}C)	Koefisien Suhu (α)
HNO_3	1,47
KNO_3	2,05
NH_3 H_2O	2,38
NH_4Cl	1,98
KCl	1,95
NaCl	2,17

f) Menggunakan frekuensi pengukuran 2 kHz. Tombol tidak ditekan ke bawah.

g) Menggunakan range pengukuran pada “auto”. Tombol tidak ditekan kebawah.

h) Mencelupkan sel konduktometer ke dalam larutan KCl dengan konsentrasi tertentu yaitu 0,1 N sebanyak 50 ml.

i) Mengatur (mengkondisikan) larutan KCl pada salah satu temperatur sesuai tabel dibawah ini :

j) Tabel konduktivitas larutan KCl 0,1M untuk kalibrasi

Suhu (ºC)	Konduktivitas KCl 0,1M (mS / cm)
0	7,15
10	9,73
15	10,48
20	11,67
25	12,88

k) Dengan melihat tabel konduktivitas diatas maka memutar tombol “coars” sampai angka pada display menunjukkan sama dengan nilai konduktivitas yang ada pada tabel diatas.

l) Untuk pengaturan yang lebih halus, memutar tombol “fine” lalu menekan tombol “stand by”.

m) Kalibrasi telah selesai dan jangan memutar kembali tombol “coars” dan “fine”.

n) Jika harga pada table diatas tidak dapat tercapai maka tetapan sel dihitung dari persamaan

o) Nilai Kh (hasil perhitungan) dikalikan dengan tetapan yang tertera pada cell, dan nilai tersebut dimasukkan kedalam konduktometer.

2. Mencari Hantaran (Konduktivitas = G) Dari beberapa Konsentrasi Larutan Asam Atau Basa
   a) Membuat larutan asam atau basa yaitu larutan HCl dan larutan NaOH dengan konsentrasi sebagai berikut : 1M; 0,5M; 0,1M; 0,05M; dan 0,01M kedalam labu takar 50 ml dan menambahkan aquadest sampai tanda batas labu.
   b) Mencelupkan sel konduktometer kedalam larutan 1M dan mengaduknya dengan magnetic stirrer.
   c) Menekan tombol "cond" pada konduktometer dan mencatat nilai konduktivitas pada display.
   d) Menekan tombol "stand by".
   e) Mengangkat sel konduktometer dari larutan 1M dan membilasnya dengan aquadest lalu mengeringkannya dengan tissue.
   f) Melakukan hal yang sama untuk konsentrasi larutan 0,5M; 0,1M; 0,05M; dan 0,01M.
   g) Membuat grafik hubungan antara konsentrasi vs konduktivitas.

3. Titrasi Larutan HCl dengan NaOH
   a) Memipet larutan sampel HCl 0,1M sebanyak 20 ml dan memasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml.
   b) Mencelupkan sel konduktometer kedalam larutan HCl 0,1M dan menambahkan aquadest hingga sel tercelup kemudian mengaduknya dengan magnetic stirrer.
   c) Memasukkan ujung mikroburet (HCl adalah larutan asam, karena itu larutan peniternya adalah larutan basa yaitu NaOH) ke dalam gelas kimia yang berisi larutan sampel HCl.0,1M.

d) Menekan tombol "cond" pada konduktometer dan mencatat nilai konduktivitas pada display (volume penitar = 0 ml).
e) Menekan tombol "stand by" setiap selesai pembacaan pada display.
f) Mengalirkan penitar dengan menekan tombol "Go" pada dosimat sampai volume tertentu atau yang diinginkan.
g) Menekan tombol "cond" pada konduktometer dan mencatat nilai konduktivitas pada display.
h) Melakukan dua point diatas sampai melewati titik akhir (konduktivitas makin besar) lalu menekan tombol "stand by". Bila titrasi melewati titik ekuivalen, maka volume penitar yang ditambahkan diperkecil.
i) Mengangkat sel konduktometer dari dalam larutan dan membilasnya dengan aquadest lalu mengeringkannya dengan tissue.

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum

   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan

   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat konduktometer yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

5. Tes Formatif

a. Jelaskan prinsip dari metoda pengujian dengan konduktometri!

b. Sebutkan dan jelaskan beberapa contoh titrasi konduktometri!

c. Jelaskan jenis-jenis titrasi konduktometri!

d. Jelaskan prinsip kerja alat konduktometer!

e. Jelaskan cara mencari hantara dari beberapa larutan asam atau basa!

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr>
<td>Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td>
<td>Non Tes</td>
<td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td>
<td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
</td>
</tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.2
Mendiskusikan hasil observasi kelompok
Menampilkan hasil kerja kelompok
Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan konduktometer dalam berbagai pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
Prinsip pengujian secara konduktometri
Alat yang digunakan
Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>Jelaskan prinsip pengujian secara konduktometri!
Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian secara konduktometri!
Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri!</td></tr>
</table>

Indikator	Penilaian		
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen
Keterampilan Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara konduktometri	Tes Unjuk Kerja		1. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan

Aspek	Penilaiaan			
	4	3	2	1
Cara menyiapkan alat dan bahan				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

KEGIATAN PEMBELAJARAN 6. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN DAN PERIKANAN SECARA POTENSIOMETRI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri ini membahas tentang alat potensiometer, persiapan sampel untuk pengujian secara potensiometri, pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri dan mengolah data hasil analisis secara potensiometri.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri.

2. Uraian Materi

Potensiometri adalah suatu teknik analisis yang didasari oleh pengukuran potensial suatu sensor atau elektroda. Salah satu metode potensiometri adalah potensiometri tidak langsung atau lebih dikenal sebagai titrasi potensiometri dimana komponen yang akan ditentukan konsentrasinya dititrasi dengan titrat yang sesuai.

Pengukuran kuantitatif dalam kimia analitik secara umum dibedakan menjadi potensiometri (berdasarkan potensial sel) dan voltametri (berdasarkan arus sel). (Rouessac 2007) Potensiometri adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan pengukuran potensial atau voltage dari suatu sel elektrokimia yang terdiri dari elektroda dan larutan. Larutan tersebut berisi komponen utama yang mempunyai kemampuan mengion.(Harvey 2000) Dasar metode

potensiometri adalah membuat sel elektrik dari analat suatu larutan sehingga perbedaan potensial sel tersebut berkaitan dengan konsentrasi larutan.(Rouessac 2007).

Suatu eksperimen dapat diukur dengan menggunakan dua metode yaitu, pertama (potensiometri langsung) yaitu pengukuran tunggal terhadap potensial dari suatu aktivitas ion yang diamati, hal ini terutama diterapkan dalam pengukuran pH larutan air. Kedua (titrasi langsung), ion dapat dititrasi dan potensialnya diukur sebagai fungsi volume titran. Potensial sel, diukur sehingga dapat digunakan untuk menentukan titik ekuivalen. Suatu petensial sel galvani bergantung pada aktifitas spesies ion tertentu dalam larutan sel, pengukuran potensial sel menjadi penting dalam banyak analisis kimia (Basset, 1994).

Titik akhir dalam titrasi potensiometri dapat dideteksi dengan menetapkan volume pada mana terjadi perubahan potensial yang relatif besar ketika ditambahkan titran. Dalam titrasi secara manual, potensial diukur setelah penambahan titran secara berurutan, dan hasil pengamatan digambarkan pada suatu kertas grafik terhadap volum titran untuk diperoleh suatu kurva titrasi. Dalam banyak hal, suatu potensiometer sederhana dapat digunakan, namun jika tersangkut elektroda gelas, maka akan digunakan pH meter khusus. Karena pH meter ini telah menjadi demikian biasa, maka pH meter ini dipergunakan untuk semua jenis titrasi, bahkan apabila penggunaannya tidak diwajibkan (Basset, 1994).

Potensial dalam titrasi potensiometri dapat diukur sesudah penambahan sejumlah kecil volume titran secara berturut-turut atau secara kontinu dengan perangkat automatik. Presisi dapat dipertinggi dengan sel konsentrasi. Elektroda indikator yang digunakan dalam titrasi potensiometri tentu saja akan bergantung pada macam reaksi yang sedang diselidiki. Jadi untuk suatu titrasi asam basa, elektroda indikator dapat berupa elektroda hidrogen atau sesuatu elektroda lain yang peka akan ion hidrogen, untuk titrasi pengendapan

halida dengan perak nitrat, atau perak dengan klorida akan digunakan elektroda perak, dan untuk titrasi redoks (misalnya, besi(II)) dengan dikromat digunakan kawat platinum semata-mata sebagai elektroda redoks (Khopkar, 1990).

Reaksi-reaksi yang berperan dalam pengukuran titrasi potensiometri yaitu reaksi pembentukan kompleks reaksi netralisasi dan pengendapan dan reaksi redoks. Pada reaksi pembentukan kompleks dan pengendapan, endapan yang terbentuk akan membebaskan ion terhidrasi dari larutan. Umumnya digunakan elektroda Ag dan Hg, sehingga berbagai logam dapat dititrasi dengan EDTA. Reaksi netralisasi terjadi pada titrasi asam basa dapat diikuti dengan elektroda indikatornya elektroda gelas. Tetapan ionisasi harus kurang dari 10^{-8}. Sedangkan reaksi redoks dengan elektroda Pt atau elektroda inert dapat digunakan pada titrasi redoks. Oksidator kuat ($KMnO_4$, $K_2Cr_2O_7$, $Co(NO_3)_3$) membentuk lapisan logam-oksida yang harus dibebaskan dengan reduksi secara katoda dalam larutan encer (Khopkar, 1990).

Metode potensiometri memerlukan setidaknya dua macam elektroda, yaitu elektroda referensi eksternal yang memiliki potensial konstan dan elektroda selektif ion atau biasa disebut juga elektroda referensi internal yang digunakan untuk pengukuran dan dipisahkan dari larutan oleh suatu membran.(Wang 2001)

Potensiometri adalah cabang ilmu kimia yang mempelajari pengukuran perubahan potensial dari elektroda untuk mengetahui konsentrasi dari suatu larutan. Metode potensiometri telah digunakan untuk mendeteksi titik akhir titrasi. Sekarang metode ini dapat digunakan secara langsung untuk menentukan konsentrasi suatu ion (*ion selective electrode*).

Alat-alat yang diperlukan dalam metode potensiometri adalah,

a. elektrode pembanding *(refference electrode*)
b. elektroda indikator (indicator electrode)
c. alat pengukur potensial

a. Elektroda Pembanding

Di dalam beberapa penggunaan analisis elektrokimia, diperlukan suatu elektrode dengan harga potensial setengah sel yang diketahui, konstan, dan sama sekali tidak peka terhadap komposisi larutan yang sedang diselidiki. Suatu elektrode yang memenuhi persyaratan diatas disebut elektrode pembanding *(refference electrode).* Pasangan elektrode pembanding adalah elektrode indikator (disebut juga *working electrode*) yang potensialnya bergantung pada konsentrasi zat yang sedang diselidiki. Beberapa contoh elektrode pembanding akan diuraikan berikut ini.

1) Elektroda Kalomel (*Calomel Electrode*)

Setengah sel elektrode kalomel dapat ditunjukan sebagai :

// $Hg2Cl_2$ (sat'd), KCI (x M) / Hg

Dengan x menunjukkan konsentrasi KCl didalam larutan. Reaksi elektroda dapat dituliskan sebagai :

$$Hg\ 2CI_{2\ (s)} + 2\ e^- \Longleftrightarrow 2\ Hg_{(l)} + 2\ CI^-$$

Potensial sel ini akan bergantung pada konsentrasi klorida x (pada kalomel yang tidak jenuh), dan harga konsentrasi ini harus dituliskan untuk menjelaskan elektroda.

Elektroda kalomel jenuh *(saturated calomel electrode, SCE)* biasanya banyak digunakan oleh para pakar kimia analitik karena banyak tersedia di pasaran dan konsentrasi klorida tidak mempengaruhi harga potensial elektroda. Harga potensial SCE adalah 0,244 V pada 25 ^{o}C dibandingkan terhadap elektroda hidrogen standart.

Elektroda kalomel terbuat dari tabung gelas atau plastik dengan panjang 5 - 15 cm dan garis tengah 0,5 - 1 cm. Pasta Hg/HgCI terdapat di dalam tabung yang lebih dalam, dihubungkan dengan larutan KCI jenuh

melalui lubang kecil. Kontak elektroda ini dengan larutan dari setengah sel lainnya melalui penyekat yang terbuat dari porselen atau asbes berpori.

2) Elektroda perak / perak klorida

Elektroda pembanding yang mirip dengan elektroda calomel adalah terdiri dari suatu elektroda perak yang dicelupkan kedalam larutan KCI yang dijenuhkan dengan AgCI. Setengah sel elektroda perak dapat ditulis :

// AgCI (sat'd), KCI (xM) / Ag

Reaksi setengah selnya adalah :

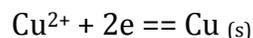
$AgCI_{(s)} + e^- \rightleftharpoons Ag_{(s)} + CI^-$

Biasanya elektroda ini terbuat dari suatu larutan jenuh atau 3,5 M KCI yang harga potensialnya dalah 0,199 V (jenuh) dan 0.205 V (3,5M) pada 25 0C. Elektroda ini dapat digunakan pada suhu yang lebih tinggi sedangkan elektroda kalomel tidak.

b. Elektroda Indikator (*Indicator Elektrode*)

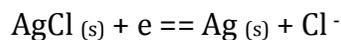
Elektroda indikator dibagi menjadi dua kategori, yaitu : elektroda logam dan elektroda membran. Elektroda logam dapat dikelompokkan ke dalam elektroda jenis pertama (*first kind*), elektroda jenis kedua (*second kind*), elektroda jenis ketiga (*third kind*), elektroda redoks.

Elektroda jenis pertama (*first kind*), adalah elektroda yang langsung berkeseimbangan dengan kation yang berasal dari logam tersebut. Contoh, elektroda tembaga.

$Cu^{2+} + 2e == Cu_{(s)}$

sehingga, $E = E^0Cu - (0,059/2) \log [1/Cu^{2+}]$ dan $E = E^0Cu - (0,059/2)$ pCu

dengan pCu adalah - log [Cu2+], jadi elektroda tembaga mengukur langsung pCu. Logam lain yang mempunyai sifat dapat balik (reversibel) meliputi, perak, raksa, kadmium, seng dan timbal.

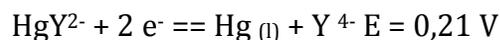
Elektroda jenis kedua (*second kind*), adalah elektroda yang harga potensialnya bergantung pada konsentrasi suatu anion yang dengan ion yang berasal dari elektroda membentuk endapan atau ion kompleks yang stabil. Contoh, elektroda perak untuk halida, reaksinya dapat ditulis,

$$AgCl_{(s)} + e == Ag_{(s)} + Cl^-$$

sehingga,

$$E = E^0 - (0{,}059/1) \log [Cl^-]$$

$$E = E^0 - 0{,}059 \text{ pCl}$$

Contoh lain, elektroda raksa untuk mengukur konsentrasi anion EDTA (disingkat Y^{4-}). Pengukurannya didasarkan pada sifat elektroda raksa dalam larutan kompleks stabil Hg(II)-EDTA encer. Reaksi pada elektroda adalah :

$$HgY^{2-} + 2\,e^- == Hg_{(l)} + Y^{4-} \quad E = 0{,}21 \text{ V}$$

Untuk reaksi tersebut berlaku :

$$E = 0{,}21 - (0{,}059/2) \log \{ [Y^{4-}] / [HgY^{2-}] \}$$

Untuk menggunakan sistem elektroda ini perlu ditambahkan sedikit HgY^{2-} ke dalam larutan. Karena kompleks ini sangat stabil (untuk HgY^{2-}, Kf = 6,3 x 1021), maka konsentrasi HgY^{2-} diangap tetap. Sehingga persamaannya menjadi :

$$E = K - (0{,}059/2) \log [Y^{4-}]$$

$$E = K - (0{,}059/2) \text{ pY}$$

dengan $K = 0{,}21 - (0{,}059/2) \log \{1 / [HgY^{2-}] \}$

Elektroda jenis ketiga (*third kind*) adalah elektroda logam yang harga potensialnya bergantung pada konsentrasi ion logam lain. Contoh, elektroda Hg dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi Ca^{2+}, Zn^{2+}, atau Cd^{2+} yang terdapat dalam larutan. Untuk elektroda Hg dengan kompleks EDTA seperti pada elektroda kedua, potensial elektrodanya dapat ditulis kembali, $E = K - (0,059/2) \log [Y^{4-}]$

Bila ditambahkan sedikit kompleks Ca(II)-EDTA, maka kesetimbangan baru akan terbentuk,

$CaY^{2-} = Ca^{2+} + Y^{4-}$

$Kf = [Ca^{2+}] [Y^{4-}] / [CaY^{2-}]$

Dengan menggabungkan harga konstanta pembentukan kompleks CaY^{2-} dengan persamaan sebelumnya didapat,

$E = K - (0,059/2) \log \{ Kf [CaY^{2-}] / [Ca^{2+}] \}$

Elektroda Redoks

Logam mulia seperti platina, emas, dan paladium bertindak sebagai elektroda indikator pada reaksi redoks. Contoh potensial elektroda platina di dalam larutan yanfg mengandung ion-ion Ce^{3+} dan Ce^{4+} adalah :

$E = E^0 - 0,059 \log [Ce^{3+}]/[Ce^{4+}]$

Dengan demikian elektroda platina dapat bertindak sebagai elektroda indikator di dalam titrasi cerimetri.

c. Elektroda indikator membran

Klasifikasi elektroda indikator membran ada dua jenis, yaitu elektroda selektif ion dan elektroda selektif molekul.

1) Elektroda selektif ion

a. Membran kristal

- Kristal tunggal, contoh LiF_3 untuk F^-

- Polikristalin atau kristal campuran contoh Ag_2S untuk S^{2-} dan Ag^+

b. Nonkristalin membran

- Gelas, contoh gelas silikat untuk Na^+ dan H^+
- Cairan, contoh cairan penukar ion untuk Ca^{2+} dan pembawa netral untuk K^+
- Cairan polimer contoh polivinil klorida untuk Ca^{2+} dan NO^-

2) Elektroda selektif molekul

a. Pendeteksi gas, contoh membran hidrofob untuk CO_2 dan NH_3

b. Elektroda bersubstrat enzim, contoh membran urease untuk urea darah

3) pH meter

pH meter merupakan contoh aplikasi elektroda membran yang berguna untuk mengukur pH larutan. pH meter dapat juga digunakan untuk menentukan titik akhir titrasi asam basa pengganti indikartor. Alat ini dilengkapi dengan elektroda gelas dan elektroda kalomel (SCE) atau gabungan dari keduanya (elektroda kombinasi).

Logam perak yang dicelupkan ke dalam larutan HCl 0,1 M bertindak sebagai elektroda pembanding 2. Sedangkan elektroda kalomel sebagai elektroda pembanding 1. Elektroda perak/perak klorida merupakan bagian dari elektroda gelas, tetapi tidak peka terhadap pH.

Hal yang harus diperhatikan dalam menggunakan elektroda-elektroda adalah cairan dalam elektroda harus selaludijaga lebih tinggi dari larutan yang diukur. Hal ini dimaksudkan untuk mencegah kontaminasi larutan elektroda atau penyumbatan penghubung karena reaksi ion-ion analit dengan ion raksa (I) atau ion perak.

Aplikasi Titrasi Potensiometri

Titrasi potensiometri banyak digunakan untuk titrasi pengendapan, pembentukan kompleks, netralisasi dan redoks.

a. Titrasi pengendapan

Campuran halida dapat ditentukan dengan titrasi argentometri. Perubahan potensialnya dapat dideteksi oleh elektroda indikator perak atau elektroda membran perak sulfida yang sensitif terthadap ion Ag^+. Pada permulaan titrasi, hanya AgI yang kelarutannya kecil teramati. Setelah semua I^- terendapkan, Br^- mengendap sebagai AgBr dan akhirnya AgCl terbentuk paling akhir (kelarutannya paling besar).

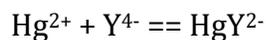
b. Titrasi Kompleksometri

Misalnya titrasi ion Hg^{2+} dengan ion EDTA. Elektroda indikator logam raksa dan elektroda pembanding kalomel digunakan pada titrasi ini. Harga potensial sel diukur berdasarkan reaksi reduksi ion Hg^{2+} pada elektroda indikator raksa.

$$Hg^{2+} + 2\ e^- == Hg(s)\ E^0 = 0{,}854\ V$$

$$E = E^0 - (0{,}059/2) \log [1/Hg^{2+}]$$

Persamaan tersebut digunakan untuk meramalkan harga potensial sebelum ditambah titran larutan EDTA. Saat EDTA diteteskan, maka terjadi kesetimbangan,

$$Hg^{2+} + Y^{4-} == HgY^{2-}$$

Konsentrasi ion Hg^{2+} dalam larutan berkurang. Sebelum mencapai titik ekivalen, harga potensial dihitung dari persamaan E di atas.

Setelah mencapai ekivalen (100%), konsentrasi ion Hg^{2+} dihitung berdasarkan tetapan pembentukan kompleks, Kf,

$$Kf = [HgY^{2-}] / [Hg^{2+}] [Y^{4-}]$$

Suatu eksperimen dapat diukur dengan menggunakan dua metode yaitu, pertama (potensiometri langsung) yaitu pengukuran tunggal terhadap potensial dari suatu aktivitas ion yang diamati, hal ini terutama diterapkan dalam pengukuran pH larutan air. Kedua (titrasi langsung), ion dapat dititrasi dan potensialnya diukur sebagai fungsi volume titran. Potensial sel, diukur sehingga dapat digunakan untuk menentukan titik ekuivalen. Suatu petensial sel galvani bergantung pada aktifitas spesies ion tertentu dalam larutan sel, pengukuran potensial sel menjadi penting dalam banyak analisis kimia (Basset, 1994).

Proses titrasi potensiometri dapat dilakukan dengan bantuan elektroda indikator dan elektroda pembanding yang sesuai. Dengan demikian, kurva titrasi yang diperoleh dengan menggambarkan grafik potensial terhadap volume pentiter yang itambahkan, mempunyai kenaikan yang tajam di sekitar titik kesetaraan. Dari grafik itu dapat diperkirakan titik akhir titrasi. Cara potensiometri ini bermanfaat bila tidak ada indikator yang cocok untuk menentukan titik akhir titrasi, misalnya dalam hal larutan keruh atau bila daerah kesetaran sangat pendek dan tidak cocok untuk penetapan titik akhir titrasi dengan indikator (Rivai, 1995).

Titik akhir dalam titrasi potensiometri dapat dideteksi dengan menetapkan volume pada mana terjadi perubahan potensial yang relatif besar ketika ditambahkan titran. Dalam titrasi secara manual, potensial diukur setelah penambahan titran secara berurutan, dan hasil pengamatan digambarkan pada suatu kertas grafik terhadap volum titran untuk diperoleh suatu kurva titrasi. Dalam banyak hal, suatu potensiometer sederhana dapat digunakan, namun jika tersangkut elektroda gelas, maka akan digunakan pH meter khusus. Karena pH meter ini telah menjadi demikian biasa, maka pH meter ini dipergunakan untuk semua jenis titrasi, bahkan apabila penggunaannya tidak diwajibkan (Basset, 1994).

Reaksi-reaksi yang berperan dalam pengukuran titrasi potensiometri yaitu reaksi pembentukan kompleks reaksi netralisasi dan pengendapan dan reaksi redoks. Pada reaksi pembentukan kompleks dan pengendapan, endapan yang terbentuk akan membebaskan ion terhidrasi dari larutan. Umumnya digunakan elektroda Ag dan Hg, sehingga berbagai logam dapat dititrasi dengan EDTA. Reaksi netralisasi terjadi pada titrasi asam basa dapat diikuti dengan elektroda indikatornya elektroda gelas. Tetapan ionisasi harus kurang dari 10-8. Sedangkan reaksi redoks dengan elektroda Pt atau elektroda inert dapat digunakan pada titrasi redoks. Oksidator kuat (KMnO4, K2Cr2O7, Co(NO3)3) membentuk lapisan logam-oksida yang harus dibebaskan dengan reduksi secara katoda dalam larutan encer (Khopkar, 1990).

Persamaan Nernst memberikan hubungan antara potensial relatif suatu elektroda dan konsentrasi spesies ioniknya yang sesuai dalam larutan. Potensiometri merupakan aplikasi langsung dari persaman Nernst dengan cara pengukuran potensial dua elektroda tidak terpolarisasi pada kondisi arus nol. Dengan pengukuran pengukuran potensial reversibel suatu elektroda, maka perhitungan aktivitas atau konsentrasi suatu komponen dapat dilakukan (Rivai, 1995).

Potensial dalam titrasi potensiometri dapat diukur sesudah penambahan sejumlah kecil volume titran secara berturut-turut atau secara kontinu dengan perangkat automatik. Presisi dapat dipertinggi dengan sel konsentrasi. Elektroda indikator yang digunakan dalam titrasi potensiometri tentu saja akan bergantung pada macam reaksi yang sedang diselidiki. Jadi untuk suatu titrasi asam basa, elektroda indikator dapat berupa elektroda hidrogen atau sesuatu elektroda lain yang peka akan ion hidrogen, untuk titrasi pengendapan halida dengan perak nitrat, atau perak dengan klorida akan digunakan elektroda perak, dan untuk titrasi redoks

(misalnya, besi(II)) dengan dikromat digunakan kawat platinum semata-mata sebagai elektroda redoks (Khopkar, 1990).

Pengukuran kuantitatif dalam kimia analitik secara umum dibedakan menjadi potensiometri (berdasarkan potensial sel) dan voltammetri (berdasarkan arus sel).(Rouessac 2007)

Potensiometri adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan pengukuran potensial atau voltage dari suatu sel elektrokimia yang terdiri dari elektroda dan larutan. Larutan tersebut berisi komponen utama yang mempunyai kemampuan mengion.(Harvey 2000)

Dasar metode potensiometri adalah membuat sel elektrik dari analat suatu larutan sehingga perbedaan potensial sel tersebut berkaitan dengan konsentrasi larutan.(Rouessac 2007)

Metode potensiometri memerlukan setidaknya dua macam elektroda, yaitu elektroda referensi eksternal yang memiliki potensial konstan dan elektroda selektif ion atau biasa disebut juga elektroda referensi internal yang digunakan untuk pengukuran dan dipisahkan dari larutan oleh suatu membran.(Wang 2001)

Elektroda yang dipakai pada percobaan adalah elektroda membran gelas yang digunakan pada potensiometer. Elektrodanya adalah Ag-AgCl yang dirancang sebaik mungkin sehingga voltage hanya bergantung pada konsentrasi ion H^+ yang terletak di luar tabung elektroda.

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini. Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

Lembar Kerja

Acara : Menganalisis suatu bahan hasil pertanian secara potensiometri

Tujuan : Percobaan ini bertujuan mengenalkan prinsip potensiometri dan mengaplikasikannya dalam penentuan konsentrasi suatu zat.

Alat dan Bahan :

Alat : potensiometer, elektroda kalomel, elektroda gelas, pengaduk magnet, gelas piala, buret 50 ml, dan pipet volumetrik 10 ml.

Bahan : NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, dan asam oksalat 0,1 N.

Langkah Kerja :

a. Kalibrasi pH meter

- pH meter dikalibrasi menggunakan bufer dengan cara kalibrasi satu nilai pH, yaitu bufer pH 10. Nilai potensial dari bufer yang disediakan diukur.

b. Standardisasi NaOH

1) Sebanyak 10 ml asam oksalat 0,1 N diambil ke dalam gelas piala 200 ml.
2) Larutan kemudian diencerkan sampai 100 ml dengan akuades.
3) Elektroda gelas kombinasi dicelupkan dan stirer ditempatkan ke dalam larutan. GGL larutan kemudian dibaca.
4) Titrasi dengan NaOH 0,1 N dengan penambahan 0,5 ml sampai 10 ml.

c. Penentuan Konsentrasi HCl

1) Sebanyak 10 ml HCl 0,1 N diambil dan dimasukkan ke dalam gelas piala 400 ml, diencerkan dengan 100 ml air.

2) Alat dipasang dan elektroda dihubungkan dengan potensiometer lalau alat dihubungkan dengan sumber arus.
3) Titik nol ditepatkan dari potensiometer dan besar potensial larutan ditetapkan dengan memakai skala 0-100 mV.
4) Larutan kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N. Pada 1-5 ml volume titran tiap kali penambahan 1 ml, kemudian 0,5 ml.
5) Bila mendekati titik ekivalen penambahan 0,1 ml (antara 9-11 ml).

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum
   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan
   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi analisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat pH meter yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan analisis bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....

4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

5. Tes Formatif

a. Jelaskan alat-alat yang diperlukan dalam metode potensiometri!
b. Jelaskan aplikasi titrasi potensiometri yang sering digunakan!
c. Sebutkan dua macam elektroda yang diperlukan dalam metode potensiometri, dan jelaskan perbedaannya!
d. Jelaskan perbedaan potensiometri dan voltametri yang anda ketahui!
e. Jelaskan reaksi-reaksi yang berperan dalam pengukuran titrasi potensiometri!

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.2
• Mendiskusikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan pH meter dalam berbagai pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
1. Prinsip pengujian secara potensiometri
2. Alat yang digunakan
3. Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan prinsip pengujian secara potensiometri!
2. Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian secara potensiometri!
3. Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri!</td></tr>
<tr><td>Keterampilan
Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara potensiometri</td><td>Tes Unjuk Kerja</td><td></td><td>1. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara menyiapkan alat dan bahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

KEGIATAN PEMBELAJARAN 7. PENGUJIAN BAHAN HASIL PERTANIAN SECARA KROMATOGRAFI

A. Deskripsi

Materi kegiatan pembelajaran pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kromatografi ini membahas tentang mengenal alat kromatografi, persiapan sampel untuk pengujian secara kromatografi, melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kromatografi dan mengolah data hasil analisis secara kromatografi.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah mengikuti pembelajaran ini, siswa dapat melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kromatografi.

2. Uraian Materi

Sebelum anda mempelajari mempelajari pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara kromatografi, lakukanlah kegiatan berikut ini:

- Bentuklah kelompok yang terdiri dari 4 – 5 orang!
- Sediakan kertas saring/kertas tissue dan spidol, potong kertas saring/tissue dengan ukuran 5 cm x 20 cm!
- Totolkan spidol pada kertas saring/tissue 1 cm dari tepi kertas!
- Masukkan kedalam air, totolan warna jangan sampai terendam!
- Gantung kertas sementara masih tercelup di dalam air!
- Perhatikan apa yang yang terjadi!
- Diskusikan dengan temanmu! Kemudian isilah lembar pengamatan berdasarkan hasil diskusi kelompokmu!

Lembar pengamatan

No.	Warna awal	Warna yang terbentuk setelah dicelupkan dalam air	Keterangan

- Tulislah kesimpulan dari hasil pengamatan pada buku tugas dan kumpulkan kepada guru!

Kromatografi

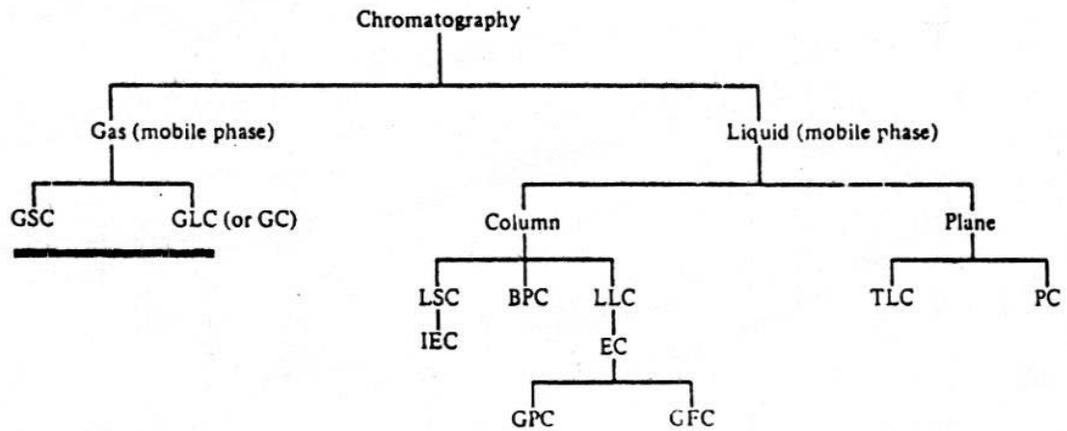
Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan pola pergerakan antara fase gerak dan fase diam untuk memisahkan komponen (berupa molekul) yang berada pada larutan. Molekul yang terlarut dalam fase gerak, akan melewati kolom yang merupakan fase diam. Molekul yang memiliki ikatan yang kuat dengan kolom akan cenderung bergerak lebih lambat dibanding molekul yang berikatan lemah.

Kromatografi pada umumnya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen zat didalam bahan yang terikat satu sama lain. Dengan menggunakan kromatografi dapat dipisahkan komponen-komponen seperti zat-zat warna (karoten, klorofil) asam-asam amino, asam-asam lemak, alkaloid dan sebagainya. Pada dasarnya analisa dengan kromatografi terdiri dari dua sistem yaitu fase tetap (*stationary phase*) dan fase bergerak (*mobile phase*). Fase tetap berguna untuk mengikat komponen zat lain yang tidak terikat.

Klasifikasi Kromatografi

Berdasarkan jenis fasa gerak yang digunakan, ada 2 (dua) klasifikasi dalam kromatografi, yaitu ; kromatografi gas dan kromatografi cairan. Pada kromatografi gas fasa geraknya berupa gas, sedangkan pada kromatografi cairan, fasa geraknya berbentuk cairan. Pada kromatografi gas, fasa diam ditempatkan di dalam sebuah kolom. Fasa diam ini dapat berupa suatu padatan atau suatu cairan yang didukung oleh butir-butir halus zat pendukung. Berdasarkan fasa diam yang berbeda, teknik ini dikenal sebagai kromatografi gas padat (*Gas Solid Chromatography/GSC*) dan kromatografi gas-cair (*Gas Liquid Chromatography/GLC*).

Pada kromatografi cairan, fasa diam dapat ditempatkan dalam sebuah kolom, maupun dibuat sebagai lapisan tipis diatas plat dari gelas atau aluminium. Teknik ini disebut sebagai kromatografi lapisan tipis *(Thin Layer Chromatography/TLC)*. Pada kromatografi cairan, sepotong kertas dapat digunakan sebagai fasa diam. Teknik ini dikenal sebagai kromatografi kertas. Kromatografi lapisan tipis dan kromatografi kertas diklasifikasikan sebagai kromatografi planar (datar) untuk membedakannya dari kromatografi yang menggunakan fasa diam di dalam sebuah kolom. Teknik kromatografi cairan dengan fasa diam di dalam kolom dikenal sebagai kromatografi cair-padat (*Liquid Solid Chromatography/LSC*) dan kromatografi cair-cair (*Liquid Liquid Chromatography/LLC*), tergantung dari fasa diamnya, suatu padatan atau cairan.

Berdasarkan interaksi kromatografi dikenal kromatografi adsorpsi, partisi, kromatografi penukar ion dan kromatografi permeasi gel. Gambar 30 menunjukkan klasifikasi kromatografi.

Gambar 30. Skema pengelompokkan kromatografi

Keterangan :

GSC – Gas-Solid Chromatography;

GLC (sering disebut GC) – Gas-Liquid Chromatography;

LSC – Liquid-Solid Chromatography (adsorption Chromatography);

IEC – Ion Exchange Chromatography (khusus untuk LSC);

BPC – Bonded-Phase Chromatography (daerah abu-abu antara LSC dan LLC);

LLC – Liquid-Liquid Chromatography (bagian dari Chromatography);

EC – Exclusion Chromatography (khusus LLC);

GPC – Gel Permeation Chromatography (salah satu tipe EC);

GFC – Gel Filtration Chromatography (salah satu tipe EC);

TLC – Thin-Layer Chromatography (khusus LSC atau LLC);

PC – Paper Chromatography (khusus LLC).

Nomenklatur :

Misalnya: Gas Liquid Chromatography (GLC)

G = Gas, fasa Fase gerak (pertama)

L = Liquid (cairan), fasa diam (kedua)

Kromatografi gas maupun kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) banyak digunakan dalam analisis kualitatif dan kuantitatif.

Pemisahan campuran komponen yang sukar menguap , yang tidak dapat dilakukan dengan kromatografi gas dilaksanakan dengan KCKT. Keuntungan-keuntungan dari Kromatografi Gas antara lain :

a. Kromatografi Gas akan memisahkan campuran-campuran yang mengandung banyak komponen dengan perbedaan titik didih rendah.
b. Analisis cepat (biasanya 10 -15 menit)
c. Sensitif (dengan detektor T.C.D. ppm, F.I.D. low ppm.E.C.D. ppb)
d. Volume yang diperlukan sangat kecil (1 – 10 µl)
e. Bisa dipakai untuk menganalisis berbagai macam campuran, hidrokarbon, obat, pestisida, gas-gas dan steroid-steroid
f. Mudah dioperasikan dan tekniknya terpercaya.
g. Baik pada analisa kualitatif dan kuantitatif
h. Hasilnya mudah ditafsirkan

   Puncak kromatogram

   - Kualitatif (dengan retensi waktu)
   - Kuantitatif (daerah puncak adalah konsentrasi a)

Berikut adalah jenis-jenis kromatografi

a. Kromatografi Kertas

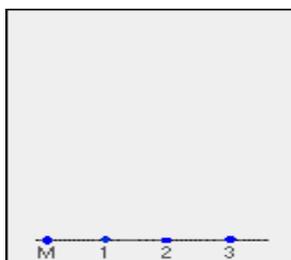
Kromatografi kertas adalah kromatografi yang menggunakan kertas selulosa murni yang mempunyai afinitas besar terhadap air atau pelarut polar lainnya. Kromatografi kertas digunakan untuk memisahkan campuran dari substansinya menjadi komponen-komponennya.

Ada tiga metode pada kromatografi kertas, yaitu metode penurunan, metode penaikan, dan metode mendatar. Pada metode penurunan, tempat pelarut diletakan di bagian atas bejana. Kertas yang telah ditetesi sampel dicelupkan. Pelarut akan mengalir oleh gaya kapiler dan gravitasi. Pada metode penaikan, tempat pelarut diletakan di bagian bawah dari bejana

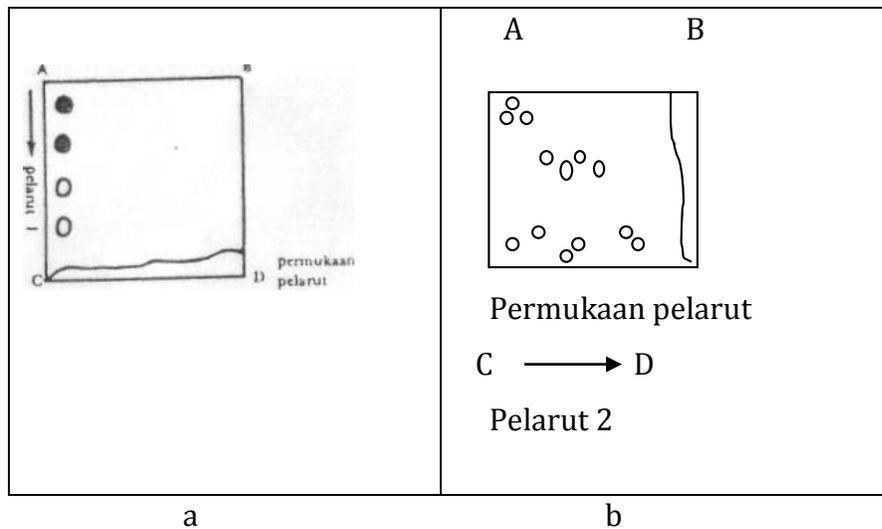
dan kertas dicelupkan di atasnya. Pelarut akan mengalir ke atas. Pada metode mendatar, kertas dibentuk bulat dan di bagian tengahnya dibuat lubang sebagai tempat untuk meletakan sumbu yang terbuat dari gulungan kertas. Melalui sumbu inilah pelarut akan naik dan membasahi kertas. Selanjutnya pelarut akan mengembang melingkar untuk membawa senyawa yang dipisahkan.

Langkah Kerja Kromatografi Kertas

Larutan cuplikan yang mengandung campuran yang akan dipisahkan diteteskan/diletakkan pada daerah yang diberi tanda di atas sepotong kertas saring dimana ia akan meluas membentuk noda yang bulat. Bila noda telah kering, kertas dimasukkan dalam bejana tertutup yang telah jenuh dengan uap pelarut, dengan satu ujung dimana tetesan cuplikan ditempatkan dan tercelup dalam pelarut yang dipilih sebagai fasa bergerak (jangan sampai noda tercelup karena senyawa yang akan dipisahkan akan terlarut dari kertas), lihat gambar 31.

Pelarut bergerak melalui serat-serat dari kertas oleh gaya kapiler dan menggerakkan komponen-komponen dari campuran cuplikan pada perbedaan jarak dalam arah aliran pelarut. Perlu diperhatikan bahwa permukaan dari kertas jangan sampai terlalu basah dengan pelarut karena hal ini tak akan memisahkan sama sekali atau daerah-daerah noda akan menjadi kabur. Bila permukaan pelarut telah bergerak sampai jarak yang cukup jauhnya atau setelah waktu yang telah ditentukan, maka kertas diambil dari bejana dan kedudukan dari permukaan pelarut diberi tanda dan lembaran kertas dibiarkan kering.

Gambar 31. Kromatografi pita/noda.

Jika senyawa-senyawa tak berwarna maka mereka dideteksi dengan cara fisika dan kimia. Cara yang biasa adalah menggunakan suatu pereaksi atau pereaksi-pereaksi yang memberikan sebuah warna terhadap beberapa atau semua dari senyawa-senyawa. Sering juga menggunakan cara deteksi dengan sinar ultra ungu atau teknik radio kimia. Bila daerah-daerah dari noda yang terpisah telah dideteksi, adalah perlu untuk mengidentifikasi tiap-tiap individu dari senyawa.

Metoda identifikasi yang paling mudah adalah berdasarkan pada kedudukan dari noda relatif terhadap permukaan pelarut, menggunakan harga Rf. Terutama pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunan kimianya mirip, seperti asam-asam amino, harga Rf sangat berdekatan satu sama lain. Dalam hal ini perlu melakukan teknik dua jalan. Kertas yang berbentuk persegi digunakan dan cuplikan ditempatkan pada satu sudut. Pengembangan dengan campuran pelarut 1, dengan ujung kertas AB dicelupkan, memberikan pemisahan sebagian seperti ditunjukkan dalam gambar 32 a. Lembaran kertas diambil dan dikeringkan dan kemudian dimasukkan dalam bejana kedua dengan ujung AC dicelupkan dalam pelarut 2. Pengembangan dengan pelarut ini, diikuti dengan pengeringan dan pemberian pereaksi tertentu akan memberikan noda-noda seperti gambar 32 b.

Gambar 32. Kromatografi dua jalan

Kertas saring dapat digantungkan/diletakkan sehingga pelarut bergerak ke atas, ke bawah atau mendatar. Hasil-hasil dari metoda pertama dan kedua adalah mirip tetapi berbeda dari metoda ketiga.

Pada metoda *penaikkan* (ascending) kertas dicelupkan hingga ujung di mana aliran mulai bergerak terletak sedikit di atas permukaan dari pelarut dan pelarut naik melalui serat-serat dari kertas oleh gaya kapiler. Sedangkan pada metoda *penurunan* (descending) ujung alas dari kertas dicelupkan dalam pelarut dan mengalir, meskipun diawali oleh gaya kapiler diteruskan oleh gravitasi. Metoda mendatar (horizontal) sangat berbeda dari kedua metoda di atas. Noda cuplikan ditempatkan pada pusat dari kertas (biasanya kertas saring berbentuk bulat) dan pelarut diteteskan juga di pusat kertas. Aliran juga oleh gaya kapiler, senyawa-senyawa dalam campuran segera berkembang dengan pelarut.

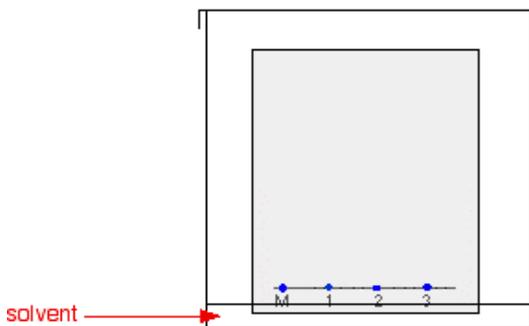
Bila akan melakukan pemisahan dengan kromatografi kertas, maka hal-hal yang perlu diperhatikan adalah :

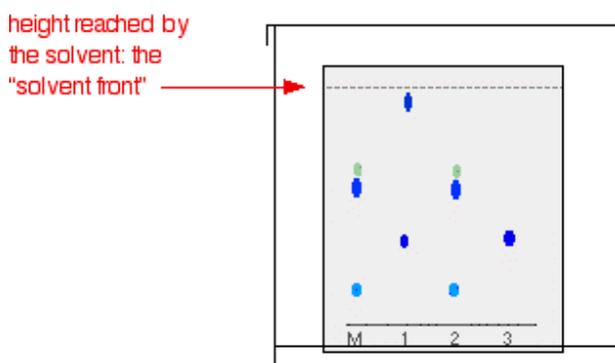
1. Metoda (penaikan, penurunan atau mendatar)
2. Macam dari kertas
3. Pemilihan dan pembuatan pelarut (fasa bergerak)
4. Kesetimbangan dalam bejana yang dipilih
5. Pembuatan cuplikan
6. Waktu pengembangan
7. Metoda deteksi dan identifikasi

Disamping sifat-sifat dari kertas dan pelarut, ada faktor-faktor penting yang mempengaruhi pemisahan yaitu : suhu, besarnya bejana, waktu pengembangan dan arah dari aliran pelarut.

Alat dan Teknik

Kertas digantungkan pada wadah yang berisi lapisan tipis pelarut atau campuran pelarut yang sesuai didalamnya. Perlu diperhatikan bahwa batas pelarut berada dibawah garis pada bercak diatasnya. Gambar berikutnya tidak menunjukkan terperinci bagaimana kertas di gantungkan karena terlalu banyak kemungkinan untuk mengerjakannnya dan dapat mengacaukan gambar. Kadang-kadang kertas hanya digulungkan secara bebas pada silinder dan diikatkan dengan klip kertas pada bagian atas dan bawah. Silinder kemudian ditempatkan dengan posisi berdiri pada bawah wadah.

Alasan penutup wadah adalah untuk meyakinkan bahwa astmosfer dalam gelas kimia terjenuhkan denga uap pelarut. Penjenuhan udara dalam gelas kimia dengan uap menghentikan penguapan pelarut sama halnya dengan pergerakan pelarut pada kertas.

Gambar 33. Batas ketinggian pelarut

Karena pelarut bergerak lambat pada kertas, komponen-komponen yang berbeda dari campuran tinta akan bergerak pada laju yang berbeda dan campuran dipisahkan berdasarkan pada perbedaan bercak warna. Gambar 34 menunjukkan apa yang tampak setelah pelarut telah bergerak hampir seluruhnya ke atas.

Gambar 34. Bercak warna yang tampak setelah pelarut telah bergerak hampir seluruhnya ke atas

Dengan sangat mudah dijelaskan melihat dari kromatogram akhir dari pena yang ditulis pada pesan yang mengandung pewarna yang sama dengan pena 2. Anda juga dapat melihat bahwa pena 1 mengandung dua campuran

berwarna biru yang kemungkinan salah satunya mengandung pewarna tunggal terdapat dalam pena 3. Nilai R_f.

Beberapa senyawa dalam campuran bergerak sejauh dengan jarak yang ditempuh pelarut; beberapa lainnya tetap lebih dekat pada garis dasar. Jarak tempuh relatif pada pelarut adalah konstan untuk senyawa tertentu sepanjang anda menjaga segala sesuatunya tetap sama, misalnya jenis kertas dan komposisi pelarut yang tepat. Jarak relatif pada pelarut disebut sebagai nilai R_f. Untuk setiap senyawa berlaku rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Misalnya, jika salah satu komponen dari campuran bergerak 9.6 cm dari garis dasar, sedangkan pelarut bergerak sejauh 12.0 cm, jadi Rf untuk komponen itu:

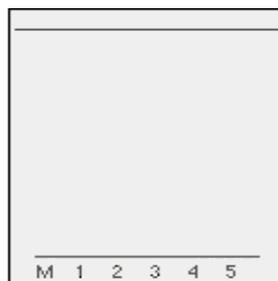
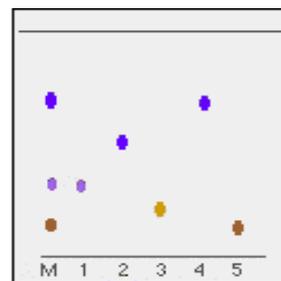
$$R_f = \frac{9.6}{12.0} = 0.80$$

Dalam contoh kita melihat ada beberapa pena, tidak perlu menghitung nilai Rf karena anda akan membuat perbandingan langsung dengan hanya melihat kromatogram. Anda membuat asumsi bahwa jika anda memiliki dua bercak pada kromatogram akhir dengan warna yang sama dan telah bergerak pada jarak yang sama pada kertas, dua bercak tersebut merupakan senyawa yang hampir sama. Hal ini tidak selalu benar. Anda dapat saja mempunyai senyawa-senyawa berwarna yang sangat mirip dengan nilai Rf yang juga sangat mirip.

Dalam beberapa kasus, dimungkinkan membuat bercak menjadi tampak dengan mereaksikannya dari beberapa pereaksi yang menghasilkan produk yang berwarna. Contoh yang baik yaitu kromatogram yang dihasilkan dari campuran asam amino.

Anggaplah anda mempunyai campuran asam amino dan ingin memisahkan asam amino tertentu yang terdapat dalam campuran. Untuk menyederhanakan, mari berasumsi bahwa anda telah mengetahui kemungkinan campuran hanya mengandung lima asam amino yang umum.

Setetes larutan campuran ditempatkan pada garis dasar kertas, dan dengan cara yang sama ditempatkan asam amino yang telah diketahui diteteskan disampingnya. Kertas lalu ditempatkan dalam pelarut yang sesuai dan dibiarkan seperti sebelumnya. Dalam gambar 35, campuran adalah M, dan asam amino yang telah diketahui ditandai 1 sampai 5.

Posisi pelarut depan ditandai dengan pinsil dan kromatogram lalu dikeringkan dan disemprotkan dengan larutan ninhidrin. Ninhidrin bereaksi dengan asam amino menghasilkan senyawa berwarna, utamanya coklat atau ungu.

Gambar 35. Senyawa berwarna sebelum dan sesudah disemprot dengan ninhidrin

Gambar di sebelah kiri menunjukkan kertas setelah dilalui pelarut hampir pada bagian atas kertas. Bercak masih belum tampak. Gambar kedua menunjukkan apa yang mungkin tampak setelah penyemprotan ninhidrin. Tidak diperlukan untuk menghitung nilai Rf karena anda dengan mudah dapat membandingkan bercak dalam campuran dengan asam amino-asam amino yang telah diketahui berdasarkan posisi dan warnanya.

Dalam contoh ini, campuran mengandung asam amino yang diberi tanda 1,4 dan 5. Bagaimana jika campuran mengandung asam amino lain selain dari asam amino yang anda gunakan untuk perbandingan? Akan terdapat bercak dalam campuran yang tidak sesuai dari asam amino yang telah diketahui. Anda harus mengulangi percobaan menggunakan asam amino-asam amino sebagai bahan perbandingan.

Jenis Kertas

Pekerjaan mula-mula dalam kromatografi kertas dilakukan dengan menggunakan kertas saring Whatmann No, 1. Jenis kertas whatman dengan berbagai nomer banyak digunakan dengan kemurnian yang tinggi dan tebal merata. Kertas dalam pemisahan terutama mempunyai pengaruh pada kecepatan aliran pelarut. Sedangkan fungsi dari kertas sendiri sangat kompleks. Efek-efek serapan disebabkan oleh sifat polar dari gugus-gugus hidroksil. Kecepatan aliran naik dengan penurunan kekentalan dari pelarut (dengan kenaikan dalam suhu), tetapi aliran pelarut pada suhu yang tertentu ditentukan oleh kerapatan dan tebal dari kertas. Penurunan kerapatan atau kenaikan tebal memberikan kecepatan aliran yang lebih tinggi. Kertas disediakan dalam bermacam-macam standar lembaran, bulatan, gulungan dan dalam bentuk tertentu. kertas harus disimpan ditempat jauh dari setiap sumber dari uap (terutama ammonia yang mempunyai afinitas yang tinggi terhadap selulosa).

Jenis Pelarut

Fasa gerak merupakan campuran yang terdiri dari suatu komponen organik utama, air, dan berbagai tambahan misalnya asam-asam, basa atau pereaksi komplek. Pelarut harus sangat mudah menguap, karena terlampau cepat mengadakan kesetimbangan, keadaan lain volatilitas yang tinggi mengakibatkan lebih cepat hilang meninggalkan lembaran kertas setelah

bergerak. Ion-ion anorganik dipisahkan sebagai ion-ion komplek dengan beberapa kelarutan dalam pelarut-pelarut organik, misal besi membentuk ion klorida kompleks yang larut dalam aseton berair, sedang nikel tidak segera membentuk ion seperti besi sehingga besi dan nikel dapat dipisahkan dengan pelarut ini, sejauh asam klorida berada untuk menstabilkan ion kompleks. Beberapa contoh dari macam-macam campuran pelarut dapat dilihat seperti pada tabel 7.1.

Untuk mendapatkan hasil campuran pelarut yang tak dapat diulang lagi maka harus dibuat hati-hati meskipun hanya dengan gelas ukur. Pelarut jangan dipakai setelah selang beberapa lama. Untuk pengembangan selama satu malam pelarut hanya digunakan satu kali pakai. Untuk penggunaan pelarut-pelarut yang mudah menguap maka pemakaiannya dalam keadaan yang baru saja dibuat.

Tabel 5. Jenis-jenis Pelarut untuk Kromatografi Kertas

Pemisahan	Pelarut	Perbandingan
Asam-asam atnino	fenol/air	larutan jenuh
	n-butanol/as.cuka/air	4:1:5
	n-butanol/as.cuka/air	12:3:5
	n- butanol /piridin/air	1:1:1
Karbihidrat (gula)	etil asetat/piridin/air	2:1:2
	etil asetat/n-PrOH/air	6:1:3
	etil asetat/as. cuka/air	3:1:3
Asam-asam lemak	n-butanol/1,5 M NH_3	Larutan jenuh
Fe, CI, Hr, J		
(garam-garam Na)	piridin/air	90: 10
Hg, Pb, Cd, Cu. Bi		
(klorida-klorida)	n-butanol/3M HCl	larutan jenuh

Cara Penempatan Cuplikan pada Kertas

Larutan carnpuran yang akan dipisahkan ditempatkan pada kertas yang berupa noda,—kemudian dibiarkan untuk berkembang membentuk suatu bulatan. Bagian dari kertas yang ditetesi dibiarkan dalam keadaan

mendatar, sehingga larutan tetap dalam keadaan kompak dalam bentuk bulatan. Kertas jangan sampai tersentuh oleh zat-zat yang tak dikehendaki. Besarnya noda tergantung pada percobaan, tetapi diameter harus tak lebih dari kira-kira 0,5 cm. Diameter ini dihubungkan dengan tebal dan karakteristik serapan dari kertas, tetapi biasanya noda yang lebih kecil akan menghasilkan pemisahan yang lebih baik.

Dalam penempatan cuplikan dalam kertas yang penting bukan jumlah volume, tetapi banyaknya campuran yang tertinggal bila pelarut telah teruapkan. Jika larutan terlalu encer untuk ditempatkan sekali, maka larutan dapat "dipekatkan" di atas kertas dengan cara meneteskan berkali-kali pada tempat yang sama, dengan jarak waktu setelah tetes yang pertama kering baru tetes yang kedua dan seterusnya. Noda sebaiknya dibiarkan kering dalam udara, tetapi bila mungkin dapat dikeringkan dengan menggunakan kipas angin. Dalam pengeringan jangan menggunakan udara panas, terutama jika larutan bersifat asam, karena ia dapat menyebabkan kertas menjadi hitam.

Harus dicegah penempatan larutan terlalu banyak. Karena kelebihan setiap komponen akan menyebabkan tidak akan tercapainya kesetimbangan partisi selama ia bergerak, hingga ia akan mengakibatkan terjadinya kedudukan/lokasi yang kabur. Ada beberapa cara pembuatan noda. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan gelas kapiler dengan diameter yang sama, di mana cara ini yang sering digunakan. Sedangkan cara yang lain dapat menggunakan alat penyuntik.

Kedudukan dari permukaan pelarut yang terdapat pada kertas harus selalu diberi tanda segera setelah lembaran kertas diambil dan kemudian dikeringkan, dengan cara digantungkan. Penandaan dapat menggunakan pensil pada sisi samping kertas. Pengeringan sebaiknya dibiarkan dalam udara, bila dikehendaki dapat menggunakan kipas angin, jangan mengeringkan dengan menggunakan udara panas, karena dapat merusak

beberapa konstituen dari campuran. Aliran udara harus paralel terhadap permukaan dari kertas.

Kebanyakan dari pelarut-pelarut kromatografi cepat menguap tanpa meninggalkan residu. Hanya untuk fenol, di mana untuk menguapkan sempurna membutuhkan waktu kira-kira empat jam. Harus diusahakan penghilangan pelarut secara sempurna, hal ini untuk mencegah pengaruh pada penambahan pereaksi. Yang penting lagi terutama dalam kromatografi dua jalan di mana jejak pelarut yang pertama harus hilang sebelum penjalanan yang kedua. Untuk alasan ini adalah paling baik menggunakan pertama-tama pelarut yang lebih mudah menguap (jadi, n-butanol/asam cuka/air). Untuk mendapatkan hasil yang dapat diulang kembali maka urutan pekerjaan harus dilakukan sama.

Deteksi Daerah-daerah Noda

Keberhasilan dari pemisahan kromatografi tergantung juga pada proses deteksi. Senyawa-senyawa yang berwarna tentu saja terlihat sebagai noda-noda berwarna yang terpisah pada akhir pengembangan. Untuk senyawa-senyawa tak berwarna memerlukan deteksi secara kimia dan fisika. Sering menjadi pekerjaan rutin bahwa kromatogram-kromatogram diuji di bawah sinar ultra violet sebelum dan sesudah setiap metoda dikerjakan.

Panjang gelombang yang digunakan biasanya 370 millimikron dan 254 millimikron. Beberapa senyawa terlihat sebagai bintik fluoresence. Metoda fisika lainnya, terutama hanya dapat dipakai terhadap senyawa-senyawa radioaktif, yaitu berdasarkan autoradiografi dan pencacahan. Metode-metode kimia adalah merupakan deteksi yang paling penting. Pereaksi-pereaksi yang digunakan biasanya dinyatakan sebagai "pereaksi-pereaksi lokasi". Pereaksi lokasi menggunakan pelarut yang baik, yang diikuti dengan penguapan. Pelarut yang ideal adalah semua senyawa-senyawa

yang terpisah tidak larut tetapi hal ini tidak mungkin. Cara menggunakan untuk mendeteksi noda yaitu dengan jalan penyemprotan.

Penyemprotan dilakukan perlahan-lahan dari samping ke samping dan dari atas ke bawah. Pelarut yang digunakan untuk penyemprotan harus tidak menguap. Tetapi di lain pihak, penguapan yang cepat dari kertas diperlukan untuk mencegah difusi dari noda-noda yang terpisah. Pelarut-pelarut yang digunakan adalah etanol, propanol, n-butanol atau kloroform atau campuran daripadanya. Campuran berair dapat digunakan, tetapi terlalu banyak air harus dicegah jika mungkin, karena dapat memberikan efek melemahkan kertas. Penyemprotan kertas harus dilakukan dalam lemari asam. Selesai penyemprotan alat harus dibersihkan untuk mencegah lobang penyemprot menjadi buntu.

Pereaksi yang digunakan untuk mendeteksi asam-asam amino biasanya ninhidrin (indanatrion hidrat). Pada suhu kamar pereaksi baru mernberikan warna pada asam-asam amino kira-kira setelah dua puluh empat jam. Tetapi pemanasan pada 100°C warna akan timbul setelah kira-kira empat menit.

Di dalam teknik pencelupan, larutan pereaksi dimasukkan dalam tempat bejana yang dangkal, dan lembaran atau potongan kertas dicelupkan di dalamnya. Ada beberapa keuntungan dalam pencelupan hanya membutuhkan bejana yang murah. Pelarut yang lebih mudah menguap dapat digunakan, hingga dapat mengurangi waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan hingga mengurangi bahaya difusi dari noda-noda selama pengeringan. Aseton dapat digunakan sebagai pelarut. Tetapi yang sering terjadi adalah bahwa senyawa-senyawa yang terpisah sangat larut dalam pelarut yang terbaik untuk pereaksi lokasi. Hingga metoda pencelupan sering menyebabkan hilangnya materi maka dalam hal ini metoda penyem-protan sangat penting.

Identifikasi dari Senyawa-senyawa

Mengidentifikasi noda-noda dalam kertas menggunakan harga Rf (*retordation factor*) yang didefinisikan sebagai :

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa}}{\text{Jarak yang digerakan oleh pelarut}}$$

Ada beberapa faktor yang menentukan harga Rf yaitu :

1) Pelarut disebabkan pentingnya koefisien partisi, maka perubahan-perubahan yang sangat kecil dalam komposisi pelarut dapat menyebabkan perubahan-perubahan harga Rf.
2) Suhu; Perubahan dalam suhu merubah koefisien partisi dan juga kecepatan aliran.
3) Ukuran dari bejana; Volume dari bejana mempengaruhi homogenitas dari atmosfer jadi mempengaruhi kecepatan penguapan dari komponen-komponen pelarut dari kertas. Jika bejana besar digunakan, ada tendensi perambat lebih lama, seperti perubahan-perubahan komposisi pelarut sepanjang kertas, maka koefisien partisi akan bertambah juga. Dua faktor yaitu penguapan dan komposisi mempengaruhi harga Rf.
4) Kertas; Pengaruh utama kertas pada harga-harga Rf timbul dari perubahan ion dan serapan, yang berbeda untuk macam-macam kertas. Kertas-kertas mempengaruhi kecepatan aliran dan akan mempengaruhi pada kesetimbangan partisi.
5) Sifat dari campuran; Berbagai senyawa mengalami partisi di antara volume-volume yang sama dari fasa tetap dan bergerak. Mereka hampir selalu mempengaruhi karakteristik dari kelarutan satu terhadap lainnya hingga terhadap harga-harga Rf.

Untuk mengukur Rf perlu melokalisir permukaan pelarut. Harga-harga Rf biasanya dinyatakan sebagai fraksi/bagian. Perbedaan dalam harga-harga Rf untuk dua senyawa yang dipisahkan tergantung pada besarnya noda-noda dan panjangnya aliran terlarut. Cara yang paling mudah dalam pengukuran Rf adalah dengan menggunakan mistar. Ujung nol ditempatkan pada titik mula-mula dan ujung yang lain direntangkan ke arah permukaan pelarut dan harga Rf langsung dapat dibaca pada titik di mana angka mistar tepat pada noda. Dalam penentuan Rf perlu mengukur dari pusat pita atau noda.

Biasanya identifikasi dari senyawa yang tak diketahui dilakukan pemisahan berulang. Daerah yang mengandung senyawa yang tak diketahui dipotong dan senyawa dielusi dengan pelarut yang sesuai. Bila hanya diperoleh satu noda dengan menggunakan lebih dari satu pelarut dengan menunjuk senyawa yang sama maka dapat diambil kesimpulan bahwa kemungkinan keduanya adalah identik

Cara lain untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yaitu dengan reaksi-reaksi warna yang karakteristik. Reaksi kebanyakan sangat berguna dalam pemisahan senyawa-senyawa anorganik, tetapi untuk senyawa organik sangat kecil kejadiannya, karena kebanyakan konstituen-konstituen dari campuran mempunyai sifat-sifat kimia yang mirip.

Prinsip Kerja Kromatografi Kertas

Pelarut bergerak lambat pada kertas, komponen-komponen bergerak pada laju yang berbeda dan campuran dipisahkan berdasarkan pada perbedaan bercak warna.

Cara penggunaan Kromatogarfi kertas

a. Kertas yang digunakan adalah Kertas Whatman No.1.

b. Sampel diteteskan pada garis dasar kromatografi kertas.
c. Kertas digantungkan pada wadah yang berisi pelarut dan terjenuhkan oleh uap pelarut.
d. Penjenuhan udara dengan uap, menghentikan penguapan pelarut sama halnya dengan pergerakan pelarut pada kertas.

b. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran, merupakan suatu metode pemisahan yang didasarkan pada pemisahan daya adsorbsi suatu adsorben terhadap suatu senyawa, baik pengotornya maupun hasil isolasinya.

Alat yang digunakan adalah kolom gelas yang diisi dengan zat padat aktif seperti alumina dan selika gel sebagai fase diam. Zat yang dimasukan lewat puncak kolom akan mengalir kedalam zat penyerap. Zat diserap dari larutan secara sempurna oleh zat penyerapan berupa pita sempit pada ujung kolom dengan kecepatan yang berbeda, sehingga terjadi pemisahan dalam kolom. Hasil pemisahan ini disebut kromatogram.

Pemisahan dengan kromatografi kolom biasanya digunakan absorben yang paling umum: alumunium oksida (Al_2O_3) yang mempunyai daya absorsi atau kereaktifan yang diatur secara cepat sehingga penggunaannya memberikan hasil yang baik. Seberapa jauh komponen itu dapat diserap absorben tergantung pada sifat fisika komponen tersebut.

Kromatografi kolom dilihat dari jenis fasa diam dan fasa geraknya dapat dibedakan :

- Kromatografi Fase Normal

  Kromatografi dengan kolom konvensional dimana fase diamnya "normal" bersifat polar, misalnya *silica gel,* sedangkan fase geraknya bersifat non polar.
- Kromatografi Fase Terbalik

  Kromatografi dengan kolom yang fase diamnya bersifat non polar, sedangkan fase geraknya bersifat polar; kebalikan dari fase normal.

Cara pengisian kolom terbagi dua , yaitu :

1. Cara basah
   - Isi dasar kolom dengan kapas
   - Masukkan eluen
   - Campurkan dengan rata sebagai adsorben dan eluen menjadi homogen
   - Jangan tersentuh atau diguncangkan ± 6 jam
   - Setelah stabil, masukkan eluen dan zat, lalu keluarkan eluen
2. Cara kering
   - Isi tabung dengan kapas
   - Masukkan eluen
   - Masukkan adsorben kering sedikit demi sedikit
   - Lalu di aduk

Faktor yang mempengaruhi kecepatan gerak zat:

- Daya serap adsorben.
- Sifat pelarut.
- Suhu sistem kromotografi.

Kecepatan turunan sampel dipengaruhi oleh :

- Tekanan didalam kolom semakin besar semakin cepat.
- Panjang absorben, makin panjang makin cepat turunnya senyawa.
- Ukuran partikel absorben.
- Rongga udara dalam absorben. Jika ada rongga udara dalam adsorben maka jalannya senyawa akan terganggu.

Faktor yang mempengaruhi proses pemisahan:

- Daya serap adsoben.
- Jenis / sifat eluen.
- Suhu kromatografi.
- Pelarut yang digunakan

Prinsip Kerja Kromatografi Kolom

- Didasarkan pada absorbsi komponen-komponen campuran dengan afinitas berbeda terhadap permukaan fase diam.
- Absorben bertindak sebagai fase diam dan fase geraknya adalah cairan yang mengalir membawa komponen campuran sepanjang kolom.
- Sampel yang mempunyai afinitas besar terhadap absorben akan secara selektif tertahan dan afinitasnya paling kecil akan mengikuti aliran pelarut.

Cara Penggunaan Kromatografi Kolom

1. Sampel yang dilarutkan dalam sedikit pelarut, dituangkan melalui atas kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam adsorben (bahan penyerap).
2. Komponen dalam sampel diadsorbsi dari larutan secara kuantitatif oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada permukaan atas kolom.

3. Dengan penambahan pelarut secara terus menerus, masing-masing komponen akan bergerak turun melalui kolom dan akan terbentuk pita yang setiap zona berisi satu macam komponen.
4. Setiap zona yang keluar kolom dapat ditampung dengan sempurna sebelum zona yang lain keluar kolom.

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik pemisahan komponen-komponen campuran senyawa-senyawa yang melibatkan partisi suatu senyawa di antara padatan penyerap (*adsorbent*, fasa diam) yang dilapiskan pada pelat kaca atau plastik kaku dengan suatu pelarut (fasa gerak) yang mengalir melewati *adsorbent* (padatan penyerap). Pengaliran pelarut dikenal sebagai proses pengembangan oleh pelarut (elusi). Karena kesederhaan dan kecepatan analisisnya, KLT mempunyai peranan penting dalam pemisahan senyawa-senyawa yang volatilitasnya relatif rendah, baik senyawa organik maupun senyawa anorganik.

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu teknik pemisahan yang sederhana dan banyak digunakan. Metode ini menggunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang ditutupi penyerap untuk lapisan tipis dan kering bentuk silika gel, alumina, selulosa dan polianida. Untuk menotolkan larutan cuplikan pada lempeng kaca digunakan mikro pipet/ pipa kapiler. Setelah itu, bagian bawah dari lempeng dicelup dalam larutan pengelusi di dalam wadah yang tertutup (*Chamber*).

Kromatografi Lapis Tipis ini mirip dengan kromatografi kertas, hanya bedanya kertas digantikan dengan lembaran kaca atau plastik yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben seperti alumina, silika gel, selulosa atau materi lainnya.

Lapisan tipis adsorben pada proses pemisahan berlaku sebagai fasa diam. Kromatografi lapis tipis lebih bersifat reproduksibel (bersifat boleh diulang) dari pada kromatografi kertas.

Sebagai fasa diam dalam KLT berupa serbuk halus dengan ukuran 5 – 50 mikrometer. Serbuk halus ini dapat berupa adsorben penukar ion. Bahan adsorben sebagai fasa diam dapat digunakan gel, alumina, dan serbuk selulosa. Partikel silika gel mengandung gugus hidrosil dipermukaannya yang akan membentuk ikatan hidrogen dengan molekul–molekul polar.

Untuk membuat lapisan tipis pada KLT perlu dibuat bubur (*slurry*) berair dari serbuk halus tadi. Zat pengikat dapat menggunakan gips, barium sulfat, polivenil alkohol atau kanji perlu ditambahkan, untuk membantu peletakan lapisan tipis pada penyangga. Bubuk halus ini kemudian ditebarkan pada papan penyangga (kaca, plastik atau aluminium), secara merata sehingga diperoleh ketebalan lapisan 0,1 – 0,3 mm. lapisan tipis adsorben diaktifkan dengan pengeringan di dalam oven pada suhu 100^{o}C selama beberapa jam.

Jenis Penyerap

Sifat-sifat umum dari penyerap untuk kromatografi lapisan tipis adalah mirip dengan sifat-sifat penyerap untuk kromatografi kolom. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada jenis penyerap. Besar partikel yang biasa digunakan adalah 1 - 25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu alasan untuk menaikkan hasil pemisahan adalah menggunakan penyerap yang butirannya halus. Sedangkan dalam kolom partikel yang sangat halus akan mengakibatkan aliran pelarut menjadi lambat, pada lapisan tipis butiran yang halus memberikan aliran pelarut yang lebih cepat.

Beberapa contoh penyerap yang digunakan untuk pemisahan dalam kromatografi lapisan tipis adalah sebagai berikut dalam tabel 6.

Tabel 6. Jenis Penyerap untuk Kromatografi Lapisan Tipis

zat padat	Digunakan untuk memisahkan
- Silika	• Asam-asam amino, alkaloid, gula, asam-asam lemak, lipida, minyak esensial, anion dan kation organik, sterol, terpenoid
- Alumina	• Alkaloid, zat warna, fenol, steroid, vitamin-vitamin, karoten, asam-asam amino
- Kieselguhr	• Gula, oligosakarida, asam-asam dibasa, asam-asam lemak, *Irigliscrida*, asam-asam amino, steroid, alkaloid, nukleotida
- Bubuk selulosa	• asam-asam amino
- Pati	• asam-asam amino, protein

Prinsip kerja Kromatografi Lapis Tipis

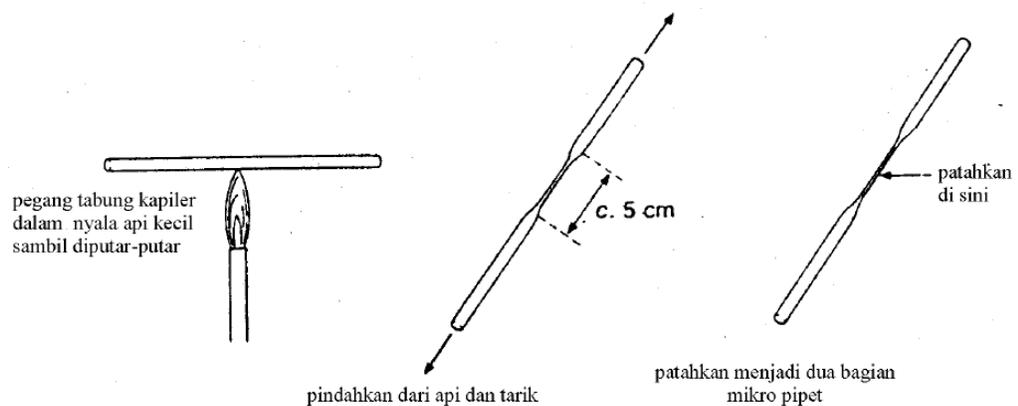
- KLT menggunakan sebuah lapis tipis silika atau alumina yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras.
- Jel silika (atau alumina) merupakan fase diam.
- Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai.
- Pelaksanaan ini biasanya dalam pemisahan warna yang merupakan gabungan dari beberapa zat pewarna.

Prosedur Analisis dengan KLT

Keberhasilan analisis dengan KLT sangat ditentukan oleh kemampuan dalam menerapkan prosedur. Adapun langkah-langkah penting dalam prosedur analisis ini adalah: penempatan noda (*spotting*), pengembangan

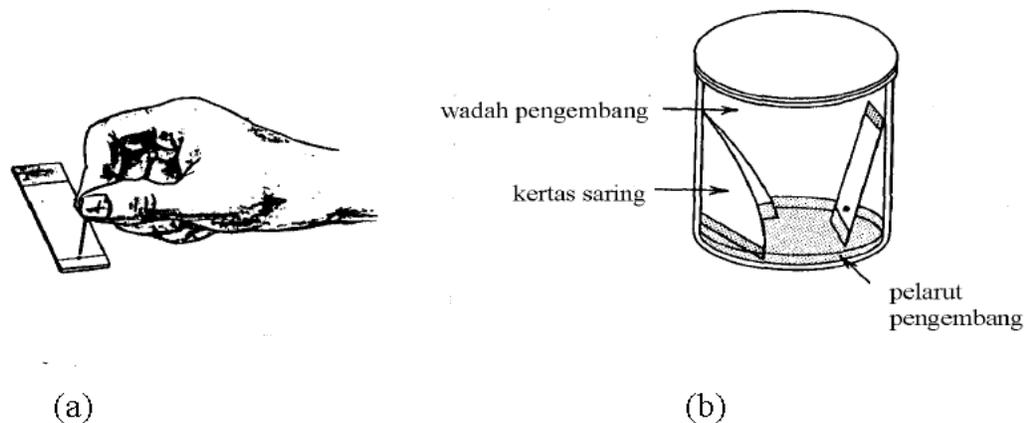
noda (elusi), dan penampakan noda. Meskipun pelat KLT telah tersedia secara komersial, namun dalam keadaan tertentu kadang kita dituntut untuk membuatnya sendiri.

Penempatan noda (*spotting*)

Dalam analisis dengan KLT, contoh yang akan dianalisis dilarutkan dalam pelarut volatil yang sesuai (konsentrasi 5 – 10%). Kemudian disiapkan pipa kapiler yang telah diruncingkan ujungnya (lubang pada ujung pipa kapiler sangat sempit) dengan cara melelehkan pipa kapiler tersebut di atas nyala api kecil (Gambar 36). Selanjutnya dibuat garis lurus (gunakan pinsil tumpul) yang memotong pelat KLT pada jarak ± 1 cm dari ujung pelat. Sekarang dengan menggunakan pipa kapiler, larutan contoh ditotolkan pada garis lurus yang telah dibuat. Untuk maksud ini, pipa kapiler dicelupkan ke larutan contoh, kemudian disentuhkan ujungnya pada pelat (diameter noda < 2 mm). Pelarut contoh dibiarkan menguap hingga noda pada pelat menjadi kering, selanjutnya dikembangkan dalam wadah pengembang.

Gambar 36. Pemotongan pipa kapiler

Catatan: contoh 5–10% sebanyak 0,02 ml sudah cukup untuk digunakan mengidentifikasi komponen-komponennya

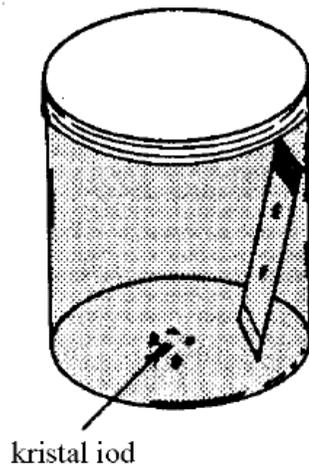
Prosedur pengembangan noda

Untuk keperluan pengembangan noda, dapat digunakan botol bermulut lebar atau gelas Erlenmeyer dengan penutup karet. Masukkan pelarut pengembang ke dalam bejana pengembang dengan kedalaman 0,5 cm. Pasang sepotong kertas saring di dalam bejana pengembang untuk mengetahui terjadinya kesetimbangan antara cairan dan uap di dalam bejana. Setelah kertas saring jenuh dengan uap pelarut pengembang, masukkan pelat KLT ke dalam bejana pengembang (ujung yang telah dinodai berada di sebelah bawah, dan noda tidak boleh terbenam dalam pelarut), kemudian tutup bejana tersebut (lihat Gambar 37). Biarkan pelarut memanjat pelat KLT sampai mencapai ketinggian kurang lebih 1 cm dari puncak pelat, dan kemudian keluarkan pelat dari bejana. Segeralah memberi tanda tinggi pelarut pada pelat, dan biarkan pelarut menguap dari pelat KLT.

Gambar 37. Prosedur analisis KLT, (a) Proses penempatan noda; (b) Proses pengembangan noda

Prosedur penampakan noda

Jika senyawa yang dianalisis dengan KLT adalah senyawa yang tidak berwarna, maka diperlukan suatu prosedur untuk mendeteksi noda yang diamati. Senyawa-senyawa yang dapat menyerap sinar (*fluoresence*) dapat ditampakkan melalui penyinaran pelat dengan sinar ultraviolet (lampu ultraviolet) di dalam tempat yang gelap. Senyawa seperti itu akan memancarkan sinar yang diserap sehingga tampak sebagai noda yang terang pada pelat.

Jika padatan penyerap pada pelarut KLT telah mengandung indikator *fluoresent*, maka seluruh pelat akan menjadi terang bila disinari dengan lampu ultraviolet kecuali daerah di mana senyawa berada. Keberadaan senyawa ditandai dengan noda hitam pada saat penyinaran.

Metode lain yang umum digunakan untuk menampakkan senyawa-senyawa organik adalah metode yang melibatkan pembentukan molekul-molekul kompleks dengan iod (kecuali alkana dan alkil halida) (Gambar 7.9).

Gambar 38. Penampakan noda dengan kristal iod

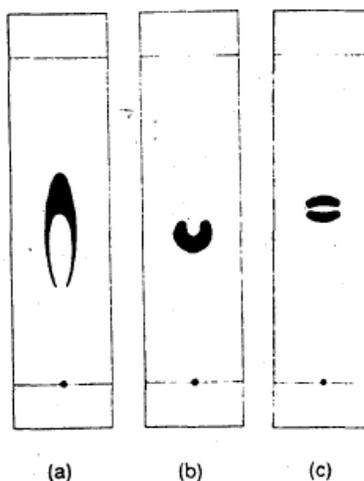
Beberapa butir kristal iodium dimasukkan ke dalam bejana yang sama dengan yang digunakan dalam prosedur pengembangan noda. Pelat KLT yang telah dikembangkan dimasukkan ke dalam bejana dan kemudian ditutup rapat. Biarkan pelat KLT di dalam bejana sampai timbul noda yang berwarna coklat tua. Bila noda sudah cukup jelas untuk diidentifikasi, keluarkan pelat KLT dari bejana dan segera lingkari noda dengan pinsil. Untuk menghilangkan warna noda kembali, letakkan pelat di dalam open sehingga iod menyublim dari pelat dan noda segera memudar. Masih banyak alternatif prosedur secara kimia yang bisa digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa organik tertentu, di antaranya tertera dalam Tabel 7.

Kadang-kadang noda tampak seperti tercoreng atau bulan sabit terbalik disebabkan muatan pelat berlebih atau masalah kelarutan. Senyawa-senyawa seperti amina dan asam karboksilat yang mana terikat sangat kuat pada sisi aktif padatan penyerap (Gambar 39 a) kadang menyebabkan noda tampak seperti bulan sabit terbalik. Hal yang kebanyakan terjadi adalah yang disebabkan ketidak-cermatan dalam penotolan, sehingga padatan permukaan penyerap rusak oleh penotol, akibatnya komponen-komponen memanjat ke atas pada permukaan yang cacat dan menghasilkan noda tampak seperti Gambar 39 b. Noda yang tampak seperti garis atau ganda (Gambar 39 c) adalah akibat penggunaan pelarut polar dalam pengembangan.

Tabel 7. Zat-zat penampak noda dan metodenya

Sistem penampak noda	Senyawa-senyawa yang diperlihatkan	Pengamatan
Uap amoniak	Fenol	Bermacam-macam warna noda (beberapa senyawa-senyawa berwarna dapat berubah warna).
5% $(NH_4)6Mo7O24$ + 0,2% $Ce(SO_4)_2$ dalam H_2SO_4 2%, diikuti dengan pemanasan	Digunakan umum	Noda biru tua, sering kali berguna jika pereaksi lain gagal.

Sistem penampak noda	Senyawa-senyawa yang diperlihatkan	Pengamatan
hingga 150°C.		
H_2SO_4 50%, diikuti dengan pemnasan hingga 150°C.	Digunakan umum	Noda hitam, sering kali berguna jika pereaksi lain gagal.
Larutan berair $FeCl_3$ 1%	Fenol-fenol dan senyawa yang berenolisasi.	Macam-macan warna noda.
Uap HCl	Amina aromatik.	Bermacam warna noda (beberapa senyawa berwana dapat berubah warna).
0,3% ninhidrin dalam n-BuOH dengan 3% AcOH, diikuti dengan pemnasan hingga 125°C selama 10 menit.	Asam amino dan amina.	Noda biru.
0,5 % 2,4-initrofenilhidrazina dalam HCl 2 M.	Aldehida dan keton.	Noda merah dan kuning.
0,5 g vanilin, 0,5 mL H_2SO_4, 9 mL EtOH.	Digunakan umum.	Berbagai warna noda.
0,5% PdCl2 dengan bebrapa tetes HCl pekat	Senyawa yang engandung sulfur dan selenium.	Warnan noda, noda merah dan kuning.

Sumber : Harwoods, Moody C. J., tahun 1989.

Gambar 39. Bentuk noda aneh KLT dari senyawa senyawa-senyawa murni: (a) senyawa yang mempunyai gugus asam atau basa kuat; (b) permukaan penyerap rusak pada penotolan; (c) senyawa dikembangkan dengan pelarut yang sangat polar.

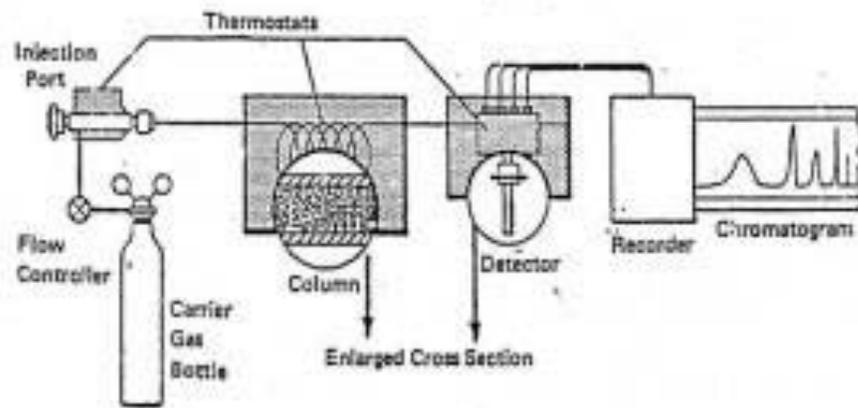
d. Kromatografi Gas

Kromatografi gas adalah proses pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya dengan menggunakan gas sebagai fase bergerak yang melewati suatu lapisan serapan (sorben) yang diam.

Dalam kromatografi gas, fase yang bergerak (atau "*mobile phase*") adalah sebuah operator gas, yang biasanya gas murni seperti helium atau yang tidak reaktif seperti gas nitrogen. *Stationary* atau fasa diam merupakan tahap mikroskopis lapisan cair atau polimer yang mendukung gas murni di dalam bagian dari sistem pipa-pipa kaca atau logam yang disebut kolom. Instrumen yang digunakan untuk melakukan kromatografi gas disebut *gas chromatograph*.

Kromatografi gas pada prinsipnya sama dengan kromatografi kolom (serta yang lainnya bentuk kromatografi, seperti HPLC, TLC), tapi memiliki beberapa perbedaan penting. Pertama, proses memisahkan komponen dalam campuran dilakukan antara fase diam cair dan gas sebagai fase bergerak, sedangkan pada kromatografi kolom yang bergerak adalah fase cair. Kedua, melalui kolom yang lolos tahap gas terletak di sebuah oven dimana temperatur gas yang dapat dikontrol, sedangkan pada kromatografi kolom biasanya tidak memiliki kontrol seperti suhu. Ketiga, konsentrasi yang majemuk dalam fase gas adalah hanya salah satu fungsi dari tekanan uap dari gas.

Kromatografi gas juga mirip dengan proses penyulingan, karena kedua proses tersebut adalah memisahkan komponen dari campuran terutama berdasarkan perbedaan titik didih atau tekanan uap. Namun, penyulingan biasanya digunakan untuk memisahkan komponen campuran pada skala besar, sedangkan GC dapat digunakan pada skala yang lebih kecil.

Gambar 40. Kromatografis Gas (GC)

Gambar 41. Skema Sistim Kromatografi Gas

Komponen dalam Kromatografi Gas

1) Gas Pembawa

Gas pembawa yang biasa digunakan adalah gas argon, helium, hidrogen dan nitrogen. Gas nitrogen memerlukan kecepatan alir yang lambat (10 cm/detik) untuk mencapai efisiensi yang optimum dengan HETP (*High*

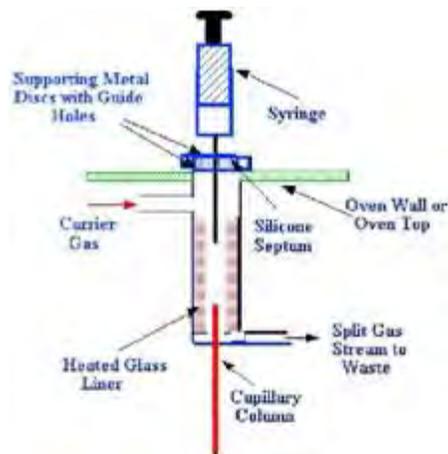
Eficiency Theoretical Plate) minimum. Sementara hidrogen dan helium dapat dialirkan lebih cepat untuk mencapai efisiensi optimumnya, 35 cm/detik untuk gas hidrogen dan 25 cm/detik untuk helium. Dengan kenaikan laju alir, kinerja hidrogen berkurang sedikir demi sedikit sedangkan kinerja nitrogen berkurang secara drastis.

Semakin cepat solut berkesetimbangan di antara fasa diam dan fasa gerak maka semakin kecil pula faktor transfer massa. Difusi solut yang cepat membantu mempercepat kesetimbangan di antara dua fasa tersebut, sehingga efisiensinya meningkat (HETP nya menurun). Pada kecepatan alir tinggi, solut berdifusi lebih cepat melalui hidrogen dan helium daripada melalui nitrogen. Hal inilah yang menyebabkan hidrogen dan helium memberikan resolusi yang lebih baik daripada nitrogen. Hidrogen memiliki efisiensi yang relatif stabil dengan adanya perubahan kecepatan alir. Namun, hidrogen mudah meledak jika terjadi kontrak dengan udara. Biasanya, helium banyak digunakan sebagai penggantinya. Kotoran yang terdapat dalam carrier gas dapat bereaksi dengan fasa diam. Oleh karena itu, gas yang digunakan sebagai gas pembawa yang relatif kecil sehingga tidak akan merusak kolom. Biasanya terdapat saringan (molecular saeive) untuk menghilangkan kotoran yang berupa air dan hidrokarbon dalam gas pembawa . Pemilihan gas pembawa biasanya disesuaikan dengan jenis detektor.

2) Injektor

Sampel dapat berupa gas atau cairan dengan syarat sampel harus mudah menguap saat diinjeksikan dan stabil pada suhu operasional (50°-300° C). Injektor berada dalam oven yang temperaturnya dapat dikontrol. Suhu injektor biasanya 50° C di atas titik didih cuplikan. Jumlah cuplikan yang diinjeksikan sekitar 5 μL. Tempat pemasukkan cuplikan cair pada kolom pak biasanya terbuat dari tabung gelas di

dalam blok logam panas. Injeksi sampel menggunakan semprit kecil. Jarum semprit menembus lempengan karet tebal disebut septum yang mana akan mengubah bentuknya kembali secara otomatis ketika semprit ditarik keluar.

Untuk cuplikan berupa gas dapat dimasukkan dengan menggunakan alat suntik gas (gas-tight syringe) atau kran gas (gas-sampling valve). Alat pemasukan cuplikan untuk kolom terbuka dikelompokkan ke dalam dua kategori yaitu injeksi split (split injection) dan injeksi splitless (splitless injection). Injeksi split dimaksudkan untuk mengurangi volume cuplikan yang masuk ke kolom. Cuplikan yang masuk biasanya hanya 0,1 % hingga 10 % dari 0,1-2 μL, sementara sisanya dibuang.

Gambar 42. Sistem injeksi split

Sedangkan injeksi splitless lebih cocok digunakan untuk analisa renik.

3) Kolom

Kolom adalah tempat berlangsungnya proses pemisahan komponen yang terkandung dalam cuplikan. Di dalam kolom terdapat fasa diam

yang dapat berupa cairan, wax, atau padatan dengan titik didih rendah. Fasa diam ini harus sukar menguap, memiliki tekanan uap rendah, titik didihnya tinggi (minimal 100º C di atas suhu operasi kolom) dan stabil secara kimia. Fasa diam ini melekat pada adsorben. Adsorben yang digunakan harus memiliki ukuran yang seragam dan cukup kuat agar tidak hancur saat dimasukkan ke dalam kolom. Adsorben biasanya terbuat dari celite yang berasal dari bahan diatomae. Cairan yang digunakan sebagai fasa diam di antaranya adalah hidrokarbon bertitik didih tinggi, silicone oils, waxes, ester polimer, eter dan amida.

Pemilihan fasa diam juga harus disesuaikan dengan sampel yang akan dipisahkan. Untuk sampel yang bersifat polar sebaiknya digunakan fasa diam yang polar. Begitupun untuk sampel yang nonpolar, digunakan fasa diam yang nonpolar agar pemisahan dapat berlangsung lebih sempurna.

Kolom pada umumnya terbuat dari baja tahan karat atau terkadang dapat terbuat dari gelas. Kolom kaca digunakan bila untuk memisahkan cuplikan yang mengandung komponen yang dapat terurai jika kontak dengan logam. Diameter kolom yang digunakan biasanya 3 mm – 6 mm dengan panjang antara 2-3 m. kolom dibentuk melingkar agar dapat dengan mudah dimasukkan ke dalam oven (thermostat).

Ada dua tipe kolom yang biasa digunakan dalam kromatografi gas, yaitu kolom pak (*packed column*) dan kolom terbuka (open tubular column).

Kolom pak (*packed column*)

Kolom pak terbuat dari stainless steel atau gelas Pyrex. Gelas Pyrex digunakan jika cuplikan yang akan dipisahkan bersifat labil secara termal. Diameter kolom pak berkisar antara 3 – 6 mm dengan panjang 1 – 5 m. kolom diisi dengan zat padat halus sebagai zat pendukung dan fasa diam berupa zat cair kental yang melekat pada zat pendukung.

Kolom pak dapat menampung jumlah cuplikan yang banyak sehingga disukai untuk tujuan preparatif. Kolom yang terbuat dari stainless steel biasa dicuci dengan HCl terlarut, kemudian ditambah dengan air diikuti dengan methanol, aseton, metilen diklorida dan n-heksana. Proses pencucian ini untuk menghilangkan karat dan noda yang berasal dari agen pelumas yang digunakan saat membuat kolom. Kolom pak diisi dengan 5% polyethylene glycol adipate dengan efisiensi kolom sebesar 40,000 *theoretical plates*

Kolom terbuka (*open tubular column*)

Kolom terbuka terbuat dari stainless steel atau quartz, berdiameter antara 0,1 – 0,7 mm dengan panjang berkisar antara 15 - 100 m. semakin panjang kolom maka akan efisiensinya semakin besar dan perbedaan waktu retensi antara komponen satu dengan komponen lain semakin besar dan akan meningkatkan selektivitas. Penggunaan kolom terbuka memberikan resolusi yang lebih tinggi daripada kolom pak. Tidak seperti pada kolom pak, pada kolom terbuka fasa geraknya tidak mengalami hambatan ketika melewati kolom sehingga waktu analisis menggunakan kolom ini lebih singkat daripada jika menggunakan kolom pak.

4) Oven

Oven adalah tempat penyimpanan kolom. Suhu kolom harus dikontrol. Temperatur kolom bervariasi antara 50^{o}C – 250^{o}C. Suhu injektor lebih rendah dari suhu kolom dan suhu kolom lebih rendah daripada suhu detektor. Suhu kolom optimum bergantung pada titik didih cuplikan dan derajat pemisahan yang diinginkan.

Operasi GC dapat dilakukan secara isotermal dan terprogram. Analisis yang dilakukan secara isotermal digunakan untuk memisahkan cuplikan

yang komponen-komponen penyusunnya memiliki perbedaan titik didih yang dekat, sedangkan sistem terprogram digunakan untuk memisahkan cuplikan yang perbedaan titik didihnya jauh.

5) Detektor

Detektor adalah komponen yang ditempatkan pada ujung kolom GC yang menganalisis aliran gas yang keluar dan memberikan data kepada perekam data yang menyajikan hasil kromatogram secara grafik. Detektor menunjukkan dan mengukur jumlah komponen yang dipisahkan oleh gas pembawa. Alat ini akan mengubah analit yang telah terpisahkan dan dibawa oleh gas pembawa menjadi sinyal listrik yang proporsional. Oleh karena itu, alat ini tidak boleh memberikan respon terhadap gas pembawa yang mengalir pada waktu yang bersamaan.

Ada dua tipe detektor, yaitu detektor integral dan differensial..Sebagian besar kromatografi gas dikerjakan dengan menggunakan analisis elusi dengan memanfaatkan detektor differensial, yang menghasikan deretan puncak yang terpisah. Detektor differensial banyak digunakan dalam kromatografi. Jenisnya antara lain :

a) Flame Ionization Detector (F.I.D.)

Pada F.I.D, sumber ionisasi adalah pembakaran biasanya berasal dari hidrogen dan udara atau oksigen. Untuk sensitivitas maksimum kondisi pembakaran memerlukan optimisasi. Untuk menentukan volume gas yang tidak tertahan (waktu gas yang tertahan mis: puncak udara) digunakan *methane* selama detector tidak sensitif terhadap udara. FID ini sempurna dan mungkin merupakan detektor yang paling banyak digunakan. Bersifat sensitive dan digunakan secara ekstensif dengan kolom kapiler.

b) Thermal Conductivity Detector (T.C.D.)

Thermal conductivity detector didasarkan pada prinsip bahwa suatu badan yang panas akan melepaskan panas pada suatu tingkat yang tergantung pada komposisi dari lingkungan sekitarnya. Kebanyakan *thermal conductivity detector* berisi kawat logam yang dipanaskan secara elektrik dan menjulang pada aliran gas. Ketika suatu unsur yang asing diperkenalkan ke dalam , temperatur dari kawat dan karenanya maka resistan kawat akan berubah. Masing-masing unsur mempunyai konduktivitas termal berbeda yang mengijinkan pendeteksiannya di aliran gas. Resistan elektrik adalah secara normal diukur oleh *Wheatstone brigde circuit.*

c) Electron Capture Detector (E.C.D.)

Electron capture detector beroperasi pada prinsip *electrons attachments* oleh molekul analit. Nitrogen sebagai gas pembawa mengalir melalui detektor dan terionisasi oleh sumber electron biasanya tritum yang teradsorbsi pada Titanium atau Scandium (TiH^3, ScH^3) atau Nickel 63(Ni^{63}). Nitrogen terionisasi akan membentuk arus antar elektroda-elektroda.

d) Flame Photometric Detector (F.P.D.)

Flame Photometric Detector dapat melakukan pengukuran yang sensitif dan selektif terhadap senyawa yang mengandung sulphur atau phosphorus. Jenis S_2 dan jenis HPO yang dibentuk dalam pengurangan karakteristik bakar *Chemiluminescene emision*, bisa di ukur dari jenis ini, dengan *photomultiplier tube*. Filter optic dapat diganti dalam detektor untuk memperlihatkan cahaya 394 nm yang dihasilkan dari sulphur atau 526 nm untuk cahaya dari phosphorus.

Walaupun F.P.D. utamanya digunakan untuk P dan S, telah ditunjukkan bahwa dengan mengganti kondisi pembakaran, F.P.D. dapat memberi respon terhadap nitrogen, halogen, boron, chromium, solenium, tellurium, dan germanium.

e) **Thermionic Spesific Detector N, P spesific (T.S.D.)**

Versi modern dari detektor, *Thermionic Spesific Detector* untuk Nitrogen dan fosfor menggunakan ujung keramik yang dipanaskan secara elektrik yang terdiri dari logam alkali-Rubidium yang dioperasikan dalam lingkungan hidrogen-udara. Sebuah potensial dipasang pada sistem dan menghasilkan arus yang sebanding dengan konsentrasi nitrogen atau fosfor yang ada. Mekanisme yang pasti pada operasional ini masih belum jelas.*Thermionic Spesific Detector* digunakan secara ekstensif dalam analisa obat-obatan dan pestisida.

f) **Photo Ionization Detector (P.I.D.)**

P.I.D. digunakan untuk mendeteksi aromatic hydrocarbon atau organo-heteroatom pada sampel; sampel yang keluar dari kolom diberi sinar ultraviolet yang cukup sehingga terjadi eksitasi yang melepaskan elektron (ionisasi); ion/electron ini kemudian dikumpulkan pada elektroda sehingga menghasilkan arus listrik

6) **Rekorder**

Rekorder berfungsi sebagai pencetak hasil percobaan pada lembaran kertas berupa kumpulan puncak, yang selanjutnya disebut sebagai kromatogram. Seperti telah diberitahukan diawal, jumlah puncak dalam kromatogram menyatakan jumlah komponen penyusun campuran. Sedangkan luas puncak menyatakan kuantitas komponennya.

Cara Penggunaan Kromatografi Gas

a. Sampel diinjeksikan ke injektor yang suhunya telah diatur.
b. Setelah sampel menjadi uap, akan dibawa oleh aliran gas pembawa menuju kolom.
c. Komponen akan terabsorbsi oleh fase diam sampai terjadi pemisahan.
d. Komponen yang terpisah menuju detektor akan menghasilkan sinyal listrik yang besarnya proporsional.
e. Sinyal listrik tersebut akan diperkuat oleh amplifier.
f. Kromatogram akan dicatat oleh rekorder berupa puncak.

Sampel yang Dapat Dianalisis dengan GC

Sampel yang dapat dianalisis dengan GC diantaranya adalah :

1. Produk Gas Alam
2. Kemurnian Pelarut
3. Asam Lemak
4. Residu Pestisida
5. Polusi Udara
6. Alkohol
7. Steroid
8. Minyak Atsiri
9. Flavor
10. Ganja (mariyuana)

Aplikasi Kromatografi Gas

1. Analisis kualitatif

   Tujuan utama kromatografi adalah memisahkan komponen-komponen yang terdapat dalam suatu campuran. Dengan demikian, jumlah puncak yang terdapat dalam kromatogram menunjukkan jumlah komponen yang terdapat dalam suatu campuran. Selain digunakan untuk keperluan pemisahan, kromatografi juga sering kali digunakan dalam analisis kualitatif senyawa-senyawa yang mudah menguap.

2. Analisis kuantitatif

   Kromatografi gas juga dapat digunakan untuk keperluan analisis kuantitatif, yang didasarkan pada dua pendekatan, yaitu luas area dan tinggi puncak pada kromatogram. Pendekatan tinggi peak kromatogram dilakukan dengan cara membuat base line pada suatu peak dan mengukur tinggi garis tegak lurus yang menghubungkan base line dengan peak. Pendekatan ini berlaku jika lebar peak larutan standar dan analit tidak berbeda. Pendekatan luas area peak memperhitungkan lebar peak sehingga perbedaan lebar peak antara standar dengan analit tidak lagi menjadi masalah. Biasanya, kromatografi gas modern telah dilengkapi dengan piranti untuk menghitung luas area peak secara otomatis. Secara manual, luas area peak dihitung dengan menggambarkan segitiga pada peak tersebut, kemudian luas segitiga dihitung.

Aplikasinya pada Bidang Lain

Kromatografi gas telah digunakan pada sejumlah besar senyawa-senyawa dalam berbagai bidang. Dalam senyawa organik dan anorganik, senyawa logam, karena persyaratan yang digunakan adalah tekanan uap yang cocok pada suhu saat analisa dilakukan. Berikut beberapa kegunaan kromatografi gas pada bidang-bidangmya adalah :

1. Polusi udara

   Kromatografi gas merupakan alat yang penting karena daya pemisahan yang digabungkan dengan daya sensitivitas dan pemilihan detector GLC menjadi alat yang ideal untuk menentukan banyak senyawa yang terdapat dalam udara yang kotor, KGC dipakai untuk menetukan Alkil-Alkil Timbal, Hidrokarbon, aldehid, keton SO , H S, dan beberapa oksida dari nitrogen dll.

2. Klinik

   Diklinik, kromatografi gas menjadi alat untuk menangani senyawa-senyawa dalam klinik seperti: asam-asam amino, karbohidrat, CO, dan O dalam darah, asam-asam lemak dan turunannya, trigliserida-trigliserida, plasma steroid, barbiturate, dan vitamin

3. Bahan-bahan pelapis

   Digunakan untuk menganalisis polimer-polimer setelah dipirolisa, karet dan resin-resin sintesis.

4. Minyak atsiri

   Digunakan untuk pengujian kualitas terhadap minyak permen, jeruk sitrat, dll.

5. Bahan makanan

   Digunakan dengan TLC dan kolom-kolom, untuk mempelajari pemalsuan atau pencampuran, kontaminasi dan pembungkusan

dengan plastik pada bahan makanan, juga dapat dipakai untuk menguji jus, aspirin, kopi dll.

6. Sisa-sisa peptisida

   KGC dengan detektor yang sensitif dapat menentukan atau pengontrolan sisa-sisa peptisida yang diantaranya senyawa yang mengandung halogen, belerang, nitrogen, dan fosfor.

7. Perminyakan

   Kromatografi gas dapat digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi hasil-hasil dari gas-gas hidrokarbon yang ringan.

8. Bidang farmasi dan obat-obatan

   Kromatografi gas digunakan dalam pengontrolan kualitas, analisa hasil-hasil baru dalam pengamatan metabolisme dalam zat-zat alir biologi

9. Bidang kimia/ penelitian

   Digunakan untuk menentukan lama reaksi pada pengujian kemurnian hasil.

Kelebihan dan Kekurangan Kromatografi Gas

1. Kelebihan
   - Waktu analisis yang singkat dan ketajaman pemisahan.
   - Dapat menggunakan kolom lebih panjang untuk menghasilkan efisiensi pemisahan yang tinggi.
   - Gas mempunyai vikositas yang rendah.
   - Kesetimbangan partisi antara gas dan cairan berlangsung cepat sehingga analisis relatif cepat dan sensitifitasnya tinggi.

- Pemakaian fase cair memungkinkan kita memilih dari sejumlah fase diam yang sangat beragam yang akan memisahkan hampir segala macam campuran.

2. Kekurangan
   - Teknik Kromatografi gas terbatas untuk zat yang mudah menguap
   - Kromatografi gas tidak mudah dipakai untuk memisahkan campuran dalam jumlah besar. Pemisahan pada tingkat miligram mudah dilakukan, pemisahan pada tingkat gram mungkin dilakukan, tetapi pemisahan dalam tingkat pon atau ton sukar dilakukan kecuali jika ada metode lain.
   - Fase gas dibandingkan sebagian besar fase cair tidak bersifat reaktif terhadap fase diam dan zat terlarut.

Agar lebih memahami dan terampil dalam menganalisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara kromatografi, lakukan kegiatan pada lembar kerja berikut ini. Bentuklah kelompok, jumlah per kelompok sesuai petunjuk guru!

Lembar Keja

I. Penetapan zat warna yang terdapat dalam bahan dengan kromatografi kertas menaik.

Tujuan : Melakukan penetapan zat pewarna yang terdapat dalam minuman/ makanan/ekstrak daun dll.

Alat :

- Gelas piala
- Hot plate
- Bejana kromatografi
- Kertas kromatografi
- Mikropipet
- Mortar dan matil
- Corong gelas
- Cawan penguap
- Kertas saring

Bahan :

- Asam asetat

- Aquadest
- Etanol 50%
- Aseton
- Hexan
- Minuman fanta (merah), teh botol, jelly, jenis daun (Hijau), kembang gula.

Cara Kerja :

A. Mempersiapkan sampel :

1. Minuman teh botol/minuman ringan ditambah asam asetat hingga bereksi asam.
2. Untuk kembang gula larutkan dalan aquades dan asam asetat.

B. Mempersiapkan kertas kromatografi :

1. Potong kertas kromatografi dengan panjang dan lebar tertentu sesuai dengan bejana kromatografi.
2. Buatlah garis dengan pinsil pada kertas kromatografi, sejajar dengan sisi kertas bagian bawah dan berjarak 2 cm.
3. Pada garis tersebut buatlah noda atau bercak dengan mikro pipet atau jarum injek, dan totolkan berturut-turut untuk masing-masing sampel dengan jarak 2 cm.
4. Sebelum kertas dimasukkan ke dalam bejana, bejana tersebut harus dijenuhkan dahulu dengan uap pelarut.
5. Gantungkan kertas tersebut dalam bejana kromatografi dan tutuplah sampai bejana jenuh dengan uap pelarut, kemudian celupkan kertas sampai tercelup setinggi 1 cm
6. Setelah pelarut menaik sampai jarak tertentu dari tempat noda, keluarkan kertas dan berilah tanda dengan pensil, kemudian keringkan (diangin-anginkan).

7. Bandingkan noda sampel terhadap noda standar atau pembanding dan hitung Rf-nya.
8. Penetapan harga Rf :

Jika empat penetesan bercak dari larutan zat dan larutan pembanding disebut A, batas rambat pelarut disebut B dan tempat pusat bercak zat atau bercak pembanding yang diamati adalah C maka :

$$\text{harga Rf} = \frac{\text{Jarak antara A dan C}}{\text{Jarak antara A dan B.}}$$

Bila suhu percobaan, jenis kertas dan macam pelarut yang digunakan sama maka harga Rf untuk zat tertentu adalah tetap.

Jika terdapat lebih dari satu bercak, potong bagian bercak dan larutkan dalam campuran aseton dan air dengan volume sama, uapkan larutan sampai kering dan larutkan sisanya dalam air suling.

II. Prosedur kerja Kromatografi Lapis Tipis

1) Pembuatan plat kaca

a. Siapkan aplikator dan satu plat kaca yang akan digunakan
b. Timbang Kiesel gel G tipe 60 sebanyak 25 g, larutkan dalam 50 ml akuades, dan campur hingga homogen.
c. Tuang di atas plat kaca yang telah disediakan dan ratakan dengan speader hingga ketebalam 0.25 mm. Keringkan pada suhu kamar.
d. Diaktivasi kembali pada suhu 100^{o}C selama 30 menit.

2) Membuat spot

a. Siapkan larutan gula dan larutan gula campuran yang akan dianalisis

b. Membuat spot pada plat kaca yang sudah diaktivasi pada suhu 100^oC selama 30 menit
c. Keringkan pada suhu kamar
d. Siapkan bejana kromatografi yang sudah diisi dengan zat elusi.
e. Masukan plat kaca yang telah di spot ke dalam bejana kromatografi. Tutup.
f. Setelah terjadi elusi pada batas yang telah ditentukan, plat diangkat
g. Plat dipanaskan di oven pada suhu 100^oC selama 10 menit
h. Plat diwarnai dengan H_2SO_4 10%
i. Amati bentuk spot yang terbentuk dan tentukan harga Rf.

Tabel 8. Harga Rf untuk berbagai macam pelarut

Pewarna	Pelarut						
	A	B	C	D	E	F	G
MERAH							
Ponceau Mx	0,33	0,55	0,35	0,41	0,41	0,23	0,19
Ponceau 4R	0,18	0,26	0,13	0,26	0,25	0,07	0,57
Carmoisme	0,44	0,17	0,37	0,28	0,55	0,30	0,15
Amaranth	0,14	0,19	0,11	0,17	0,16	0,04	0,03
Red 10B	0,26	0,30	0,23	0,37	0,37	0,21	0,20
Erytrosine	1,00	0,58	0,47	0,57	1,00	0,56	0,06
Red 2G	0,35	0,35	0,38	0,39	0,41	0,18	0,46
Red 6B	0,18	0,17	0,37	0,22	0,22	0,10	0,28
Red FB	0,25	0,11	0,49	0,13	0,58	0,24	0,01
Ponceau SX	0,39	0,30	0,41	0,39	0,51	0,26	0,32
Ponceau 3R	0,38	0,47	0,35	0,45	0,58	0,21	0,11
Fast Red E	0,38	0,47	0,45	0,49	0,51	0,24	0,19
JINGGA							
Orange G	0,35	0,47	0,48	0,52	0,46	0,23	0,66
Orange RN	0,59	0,75	0,74	0,75	0,78	0,57	0,28
Sunset Yellow FCF	0,28	0,45	0,40	0,43	0,46	0,22	0,43
KUNING							
Tartrazine	0,12	0,17	0,09	0,20	0,25	0,04	0,70
Napthol Yellow S	0,44	0,54	0,17	0,68	0,73	0,44	0,40
Yellow 2G	0,44	0,41	0,41	0,37	0,65	0,31	0,76
Yellow RFS	0,33	0,47	0,30	0,43	0,47	0,22	0,54
Yellow RY	0,77	0,04	0,18	0,07	0,16	0,03	0,27

HIJAU,BIRU, UNGU							
Green S	0,44	0,44	0,70	0,41	0,67	0,30	0,83
Blue VRS	0,54	0,07	0,76	0,64	0,70	0,32	0,79
Indago Karimue	0,14	0,20	0,30	0,28	0,34	0,14	0,11
Violet BNP	0,54	0,63	0,80	0,68	0,75	0,32	0,47
COKLAT, HITAM							
Brown FK	0,18	0,34	0,36	0,57	0,61	0,27	0,03
Chocolate Brown	0,18	0,34	0,49	0,75	0,77	0,49	0,18
Brown FB Chocolate	0,49	0,13	0,50	0,15	0,15	0,00	1,00
Brown HB	0,47	0,13	0,50	0,15	0,15	0,00	1,00
Black PN	0,05	0,06	0,10	0,13	0,14	0,02	0,10
Black 7984	0,07	0,10	0,03	0,11	0,00	0,03	0,06

III. Menetapkan Zat Warna di dalam Sampel Dengan Kromatografi Kolom.

Tujuan : Melakukan penetapan zat warna dengan menggunakan khromatografi kolom

Alat :

- Beaker glas
- Batang pengaduk
- Mortal dan martil
- Corong
- Kolom
- Erlenmeyer kecil

Bahan :

- Minuman/makanan/daun-daunan/bunga yang berwarna.
- $CaCO_3$
- n- Hexan
- Etanol
- Kertas saring
- Glass woll/kapas

Cara Kerja :

A. Penyiapan sampel :

1. Sampel/daun/wortel di ekstrak dengan pelarut organik (etanol atau n-Hexan).
2. Ekstrak disaring dengan kapas atau kertas saring, filtratnya diuapkan hingga diperoleh larutan yang pekat (Jangan sampai kering).

B. Penyiapan kolom dan pembuatan penyerap.

1. Masukkan glass woll atau kapas ke dalam kolom hingga bagian bawah,
2. Masukkan serbuk $CaCO_3$ perlahan-lahan hingga merata sampai 1/3 isi kolom, atau serbuk $CaCO_3$ dilarutkan dahulu dalam pelarut organik (Petroleum eter) hingga diperoleh bubur.
3. Tuangkan bubur $CaCO_3$ ke dalam kolom sampai 1/3 dari panjang kolom.
4. Beri kertas saring berbentuk bulatan diatas permukaan penyerap.
5. Teteskan larutan sampel (A) ke dalam kolom penyerap dengan menggunakan pipet, berikut tambahkan pelarut, dan jaga jangan sampai di atas permukaan penyerap kering.
6. Tunggu beberapa lama sampai diperoleh pita-pita yang berwarna terpisah.
7. Amati warna pita-pita yang terbentuk dan tuliskan warna apa yang terpisah tersebut.

IV. Analisa Asam Karboksilat (Asam Lemak) Rantai Panjang Dengan Kromatografi Gas

Acuan : Smith, A.W. *Education in Chemistry*, 14 (3), 74 (1977) Grob, R.L., *Modern Practice of Gas Chromatography*, Ch.9, pp 451-463 (dalam Wiryawan dkk. 2008)

Tujuan :

Untuk menganalisis komposisi asam lemak dari lemak atau minyak tertentu, secara alami terjadi, dengan menggunakan teknik derivatisasi sederhana, dalam rangka :

- Identifikasi kualitatif dari beberapa asam yang ada
- Menentukan komposisi persen-berat relatif dari asam yang ada

Kondisi Instrumen

- Instrumen : Becker 407
- Temperatur kolom : 180^{o}C
- Temperatur detektor : 230^{o}C
- Temperatur atas : 260^{o}C
- Tekanan gas pembawa : 2,0
- Range : 100

Catatan :

1. Sampel dan standar akan disediakan oleh asisten lab
2. Peralatan gelas dan syringe tersedia dari ruang penyiapan
3. Kromatogram yang akan terekam menggunakan integrator.
   Periksa bersama asisten lab sebelum menggunakan instrumen.

Metode :

1. Timbang 150 mg sampel ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering dan tambahkan 3 mL n-heksana. Tambahkan 3 mL n-heksana ke dalam tabung reaksi kedua. Tabung ini akan berisi campuran “blank”. Pada tiap tabung, tambahkan 1 mL KOH 2M dalam metanol dan kocok selama 30 detik. Biarkan beberapa menit sebelum dianalisa.

2. Kromatografikan 0,2 μL lapisan heksana dari campuran "blank" dan amati jika terdapat ketidakmurnian. Jika ketidakmurnian tampak, konsultasikan dengan asisten lab. Kromatografikan 0,2 μL lapisan heksana dari campuran sampel.
   Gunakan syringe yang berbeda, kromatografikan 0,2 μL larutan standar metil ester jenuh.

Hasil

Tabulasikan semua data yang dihasilkan Gunakan hasil ini untuk mengidentifikasi metil ester jenuh dalam sampel Anda

Dari data retensi buatlah grafik log t_R vs jumlah karbon dan gunakan grafik ini untuk memperkirakan nilai ECL dari sisa puncak pada kromatogram sampel.

Setelah Anda melakukan kegiatan praktikum:

1. Buatlah laporan hasil praktikum yang ringkas namun jelas. Laporan dibuat setiap kali pertemuan melakukan praktikum atau sesuai petunjuk guru, dengan out line sebagai berikut:

   Halaman sampul memuat judul praktikum, waktu / tanggal praktikum, tempat, anggota kelompok

   Daftar isi

   Bab I: Pendahuluan

   A. Tujuan Praktikum
   B. Landasan teori

   Bab II: Pelaksanaan

   A. Alat dan bahan
   B. Prosedur kerja

   Bab III: Hasil dan Pembahasan

   Bab IV: Kesimpulan

   Daftar pustaka

2. Setiap kelompok mempresentasikan laporan hasil pengujian, teknik pelaksanaan presentasi sesuai petunjuk guru.

3. Tugas

Untuk lebih memahami materi analisis bahan hasil pertanian dan perikanan secara kromatografi, coba Anda cari informasi tentang penggunaan alat

kromatografi yang banyak digunakan dalam berbagai macam kegiatan analisis bahan hasil pertanian dan perikanan dari berbagai referensi baik buku teks, jurnal atau internet.

Diskusikan hasil pengamatan Anda dengan teman atau guru!

4. Refleksi

Untuk mengukur tingkat pencapaian kompetensi pada kompetensi dasar pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi, anda diminta untuk melakukan refleksi dengan cara menuliskan/menjawab beberapa pertanyaan pada lembar refleksi.

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersendiri
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda!

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
....
....

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
....
....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
....
....

4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
....
....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
....
....

5. Tes Formatif

a. Jelaskan perbedaan prinsip analisis kromatografi kertas dan kromatografi kolom!
b. Sebutkan 4 jenis kromatografi yang anda ketahui!
c. Jelaskan perbedaan fase tetap dan fase bergerak pada analisa secara kromatografi!
d. Jelaskan apa yang dimaksud dengan Rf!
e. Jelaskan tahapan analisis secara kromatografi kertas!

C. PENILAIAN

(Kriteria lihat Lampiran)

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>Sikap
1.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>1.2
• Mendiskusikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik penilaian diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk instrumen</th><th>Butir soal/ instrumen</th></tr>
<tr><td>1.3
Menyumbang pendapat tentang kegunaan alat kromatografi dalam berbagai pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar observasi penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
1. Prinsip pengujian secara khromatografi
2. Alat yang digunakan
3. Cara pengujian</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan prinsip pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi!
2. Jelaskan alat yang digunakan dalam pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi!
3. Jelaskan cara pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi!</td></tr>
<tr><td>Keterampilan
Melakukan pengujian bahan hasil pertanian dan perikanan secara khromatografi</td><td>Tes Unjuk Kerja</td><td></td><td>1. Rubrik Penilaian pelaksanaan percobaan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara menyiapkan alat dan bahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

III. PENTUTUP

Buku bahan ajar ini merupakan salah satu buku pegangan siswa sebagai referensi dalam mempelajari dasar analisis fisikokimia. Dalam buku ini hanya menjelaskan penggunan instrumen dalam beberapa analisis saja, untuk itu siswa sangat dianjurkan untuk mempelajari penggunaan alat/instrumen dalam kegiatan lainnya sesuai dengan kompetensi dasar masing-masing, seperti yang diharapkan dalam tugas-tugas dalam setiap pembelajarannya.

Materi dalam bahan ajar ini tentu saja masih sangat kurang , walaupun demikian semoga materi ini menjadi salah satu referensi dalam mempelajari atau meningkatkan kompetensi dasar analisis fisikokimia.

Kepada semua pihak, saran yang membangun penyusun harapkan demi perbaikan bahan ajar ini.

DAFTAR PUSTAKA

Adam Wiryawan, dkk. 2008. Kimia Analitik untuk SMK. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional Tahun 2008

Bard, A.J. & Faulker, L.R. 1980. *Electrochemical Methods*. New York: John Willey & Sons

Dian Nurdiani, 2011. Melakukan Analisis Kromatografi. PPPPTK Pertanian Cianjur.

Dian Nurdiani, 2011. Menganalisis Bahan Hasil Pertanian Secara Fisiko Kimia. PPPPTK Pertanian Cianjur.

Harvey David. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. New York: McGraw-Hill Comp.

http://en.wikipedia.org/wiki/Saccharimeter diakses tanggal 20 Nopember 2013. Jam 10.40

http://wanibesak.wordpress.com/2011/07/04/pengertian-dasar-spektrofotometer-vis-uv-uv-vis/

http://www.scribd.com/doc/75404506/makalah-TITRASI-KONDUKTOMETRI. Diakses tanggal 22 Nopember 2013. Pukul 8.00

http://www.unhas.ac.id/lkpp/mipa/Teknik%20Dalam%20Lab%20Kimia%20Organik-DR.%20Firdaus,MS.pdf

https://wanibesak.wordpress.com/2011/07/04/spektrofotometri-sinar-tampak-visible/

Kennedy.John. 1986. Analytical Chemistry Principle. Harcount Grace. New York : Javanovich Publisher

Patnaik Pradyot. 2004. *Dean's Analytical Chemistry Handbook Second Edition*. New York: McGraw-Hill Comp.

Rouessac Francis, Annick Rouessac. 2007. *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques Second Edition*. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.

Rury Rachmad, S.Si. ANALISIS FISIKA NON INSTRUMENTAL. http://dc396.4shared.com/doc/rEhORFUP/preview.html diakses 12 Oktober 2013

Syarif Hamdani, dkk. 2012. Panduan Praktikum Kimia Analisis. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Bandung

Underwood, A.L. dan R.A. Day. 1999. Analisa Kimia Kuantitatif. Edisi ke-5. Jakarta : Erlangga

Vogel. 1994. Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik. Edisi ke-4. Jakarta : EGC

Wang Joseph. 2001. *Analytical Electrochemistry Second Edition*. New York: John Wiley & Sons, Inc.

LAMPIRAN

Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Menanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek menanya **:**

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan cukup sesua dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan kurang sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak menanya

2. Aspek mengamati :

Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat

Skor 3 Terlibat dalam pengamatan

Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan

Skor 1 Diam tidak aktif

3. Aspek menalar

Skor 4 Jika nalarnya benar

Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar

Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah

Skor 1 Diam tidak beralar

4. Aspek mengolah data :

Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua

Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar

Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar

Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek menyimpulkan **:**

Skor 4 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar

Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek menyajikan:

Skor 4 jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawabsemua petanyaan dengan benar

Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab

Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat penuh :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat

Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek bertanya :

Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tdak bertanya

3. Aspek Menjawab :

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya

Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

4. Aspek Memberikan gagasan orisinil :

Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri

Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun

Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain

Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rublik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kritera :

1. Cara merangkai alat :

   Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

   Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

   Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

   Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

   Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

   Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

   Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

   Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

   Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

   Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

   Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

   Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

   Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

   Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

   Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

   Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

   Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

   Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

   Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

   Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

   Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi :

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan Dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk tabel, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
		data hasil pengamatan	hasil pengamatan	hasil pengamatan tetapi tidak relevan	data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok